ISSN 0073 - 9901
MIBUAH



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENAÇÃO DOS INSTITUTOS DE PESQUISA
INSTITUTO BUTANTAN
SÃO PAULO, SP — BRASIL

# Memórias do Instituto Butantan

VOLUME 49 NÚMERO 3, 1987

As "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" têm por finalidade a apresentação de trabalhos originais que contribuam para o progresso nos campos das Ciências Biológicas, Médicas e Químicas, elaborados por especialistas nacionais e estrangeiros.

São publicadas sob a orientação da Comissão Editorial, sendo que os conceitos emitidos são de inteira responsabilidade dos autores.

The "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" are the vehicle of communication for original papers written by national and foreign specialists who contribute to the progress of Biological, Medical and Chemical Sciences.

They are published under the direction of the Editorial Board which assumes no responsability for statements and opinions advanced by contributors.



Indexado/Indexed: Biosis Data Base, Chemical Abstracts, Current Contents, Excerpta Médica, Index Medicus.

Periodicidade: irregular
Permuta/Exchange: são feitas entre entidades governamentais, com publicações congêneres, mediante consulta prévia. Exchanges with similar publications can be settled with academic and governmental institutions through prior mutual agreement.

Endereço/Address. Instituto Butantan — Biblioteca. Av. Vital Brasil, 1.500
05504 — São Paulo, SP — Brasil
Telefone/Telephone: (011) 211-8211 — R. 129 — Telex: (011) 83325 BUTA-BR





Governo do Estado de São Paulo
Secretaria de Estado da Saúde
Coordenação dos Institutos de Pesquisa
Instituto Butantan — São Paulo — SP — Brasil

# MEMÓRIAS

# DO

# INSTITUTO BUTANTAN

Volume 49, número 3, 1987

São Paulo, SP — Brasil
1987



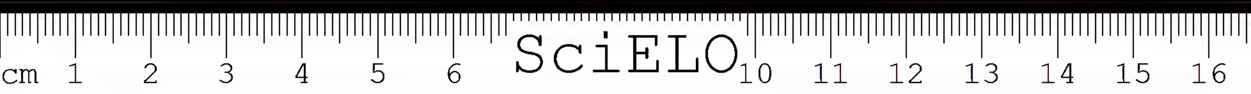
MEMÓRIAS do INSTITUTO BUTANTAN. (Secretaria de Estado da Saúde)
São Paulo, SP — Brasil, 1918 —

1918 — 1983/84, 1-47/48
Publicação interrompida de 1985 a 1986.
1987, 49(1-3)

ISSN 0073-9901
MIBUAH

CDD 614.07205

Solicita-se permuta / Exchange desired



Mem. Inst. Butantan
49(3), 1987

## SUMÁRIO/SUMMARY


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

EDITORIAL

## MUDANÇA NA PUBLICAÇÃO DE MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN E COLETÂNEA DE TRABALHOS DO INSTITUTO BUTANTAN.

## A CHANGE IN PUBLICATION OF MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN AND COLETÂNEA DE TRABALHOS DO INSTITUTO BUTANTAN.

A partir do volume 49, 1987, as "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" serão editadas em fascículos, em intervalos irregulares.

A "COLETÂNEA DE TRABALHOS DO INSTITUTO BUTANTAN" não mais será editada como volume independente, passando a ser incluída, sob a forma de resumos, no último fascículo das "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN", com o título de "COLETÂNEA DE RESUMOS DE TRABALHOS PUBLICADOS PELOS PESQUISADORES DO INSTITUTO BUTANTAN".

As of volume 49, 1987, the "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" will further on be edited in fascicles at irregular intervals.

The "COLETÂNEA DE TRABALHOS DO INSTITUTO BUTANTAN" will no more be edited as independent volumes, but will be included in the last fascicle of the "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" as abstracts under the title "COLETÂNEA DE RESUMOS DE TRABALHOS PUBLICADOS PELOS PESQUISADORES DO INSTITUTO BUTANTAN".






cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
49(3):69-78, 1987.

# A SYSTEMATIC FRACTIONATION OF *CRÓTALUS DURISSUS TERRIFICUS* VENOM +

Daniel BERCOVICI*
Ana Marisa CHUDZINISKI**
Waldely de Oliveira DIAS*
Maria Izabel ESTEVES*
Elisa HIRAICHI***
Nilza Yurumi OISHI*
Zuleika P. PICARELLI***
Marilda Casemiro da ROCHA*
Celina Maria Pompeo Mome UEDA*
Norma YAMANOUYE***
Isaias RAW*

ABSTRACT: 1. The venom of *C.d. terrificus* was fractionated to obtain from the same preparation: 5'-nucleotidase, phosphodiesterase, thrombin-like enzyme, phospholipase A2, crotapotin, convulxin and gyroxin. All these proteins were shown to be homogeneous by SDS-PAGE.

2. L-amino acid oxidase, tissue kallikrein-like and NAD-hydrolase activities were detected.

3. One of the homogeneous fractions presents a toxic activity and produces symptoms different of those of known toxins. It has molecular weight of 8,600 Daltons.

4. Phospholipase A2 activity of venom and fraction is completely inhibited by crotapotin, and this inibitions is specific for the venom of Crotalus and does not occur with phospholipase A2 activity of *Bothrops jararaca*, *Bothrops moojeni* and *Tityus bahiensis*.

KEYWORDS: *Crotalus* venom, toxins, enzymes.

## INTRODUCTION

Although the venom of *Crotalus durissus terrificus* has already been investigated, with the isolation of toxins and enzymes (Tu, 1977 and 1982),[18]

* Instituto Butantan, Centro de Biotecnologia
** Instituto Butantan, Seção de Fisiopatologia Experimental
*** Instituto Butantan, Serviço de Farmacologia

+ Supported by grants 4.3.84.235 and 236 from FINEP.

a systematic study which would allow the isolation of the several toxins and enzymes from the same batch was not yet been made. In the present investigation a large batch of venom, representative of the venom of this species in Brazil, has been submitted to purification by ammonium sulfate and column chromatographies, with the recovery of known toxins and enzymes as well as of a new toxin.

## MATERIALS AND METHODS

### *Materials*

Venom used in this preparation was collected and dried at room temperature by the Section of Venoms of this Institute and was 10 years old. Ion exchange and affinity chromatography resins were obtained from Pharmacia (Sweden) and sepharose-1-4-butenediol-diglycil-p-aminobenzamidine was prepared by Biobraz (Brazil).

Synthetic substrates and purified bovine fibrinogen were obtained from Sigma Chemical Co. (USA).

### *Enzyme activity determinations*

Thrombin-like activity was measured by the clotting time of fibrinogen, using as standard a thrombin preparation, and expressed in NIH units [15].

Phosphodiesterase was measured using bis-p-nitrophenyl-phosphate as substrate[7]. Unspecific phosphatase was measured by the same method, using p-nitrophenyl-phosphate as substrate.

5'-nucleotidase was assayed according to Tatsuki *et al*[17] and phospholipase A2 according to Grassman and Hanning[9]. NAD-nucleotidase was measured by the hydrolysis of $NAD^+$ and the remaining $NAD^+$ measured with alcohol dehydrogenase[6].

L-amino acid oxidase was measured according to Wellner[21]. Kallikrein-like activity was measured with D-valyl-L-leucyl-L-arginine-p-nitroanilide and D-prolyl-L-phenylalanyl-L-arginine-p-nitroanilide, at pH 8.0 and at 25°C[5] and by the direct method of Henriques *et al*[10] using horse plasma treated according to Werke *et al*[22] as substrate and rat isolated uterus for assaying the kinin formed.

### *Toxins*

Crotamine and crotoxine were assayed by intravenous injections respectively into mice[19] and young chicken.

Crotapotin was assayed by the inhibition of phospholipase A2[3].

Gyroxin was assayed by intravenous injection into mice as described by Barrabin *et al*[1]. Convulxin was assayed by the induction of platelet aggregation[20].

### *Acrylamide electrophoresis*

SDS-PAGE was carried out by the standard method[4]. PAGE at pH 4. O was carried out according to Giglio[8].

## RESULTS AND DISCUSSION

### A. VENOM FRACTIONATION

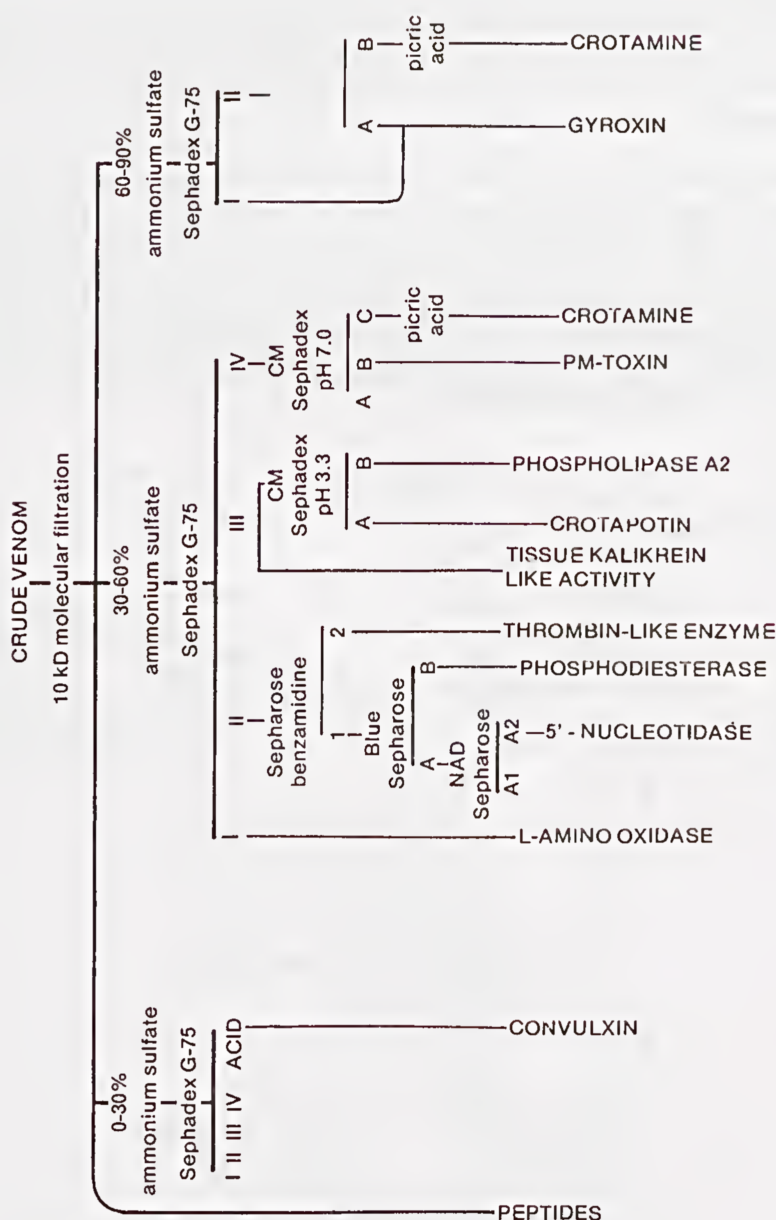



**FIGURA 1. Fractionation scheme**

1. *Isolation of peptides*: 30g of venom dissolved in 300 ml of 0.9% sodium chloride was filtered through a hollow fiber with a nominal cut of 10 kDaltons. The filtrate, containing the peptides, was lyophylized, yielding 1.2g of dry weight.

2. *Ammonium sulfate fractionation*: After removal of the peptides a protein fraction was precipitated, with stirring and in an ice bath, with solid ammonium sulfate, up to 30% saturation. The precipitate was removed by centrifugation at 10.000g for 15 minutes, at 4°C. More ammonium sulfate was added to reach 60% saturation, and the second precipitate removed as before. The supernatant was once more precipitated by adding ammonium sulfate up to 90% saturation, and the precipitate collected by centrifugation as before. The three precipitates were dissolved in a minimum volume of. 0.01M phosphate buffer, pH 7.0.

3. *Gel filtration*: Each one of the three ammonium sulfate fractions were introduced, without previous dialysis, into a Sephadex G-75 column (5 x 80cm), previously equilibrated with 0.1M sodium chloride with $10^{-3}$M phosphate buffer, pH 7.0. The 0-30% and 30-60% ammonium sulfate fractions yielded four fractions each, while the 60-90% only two (figure 1). After the elution of the four fractions from the 0-30% ammonium sulfate fraction, the column was eluted with 0.1M acetate buffer pH 3.5, to yield a small fraction which binds to the Sephadex.

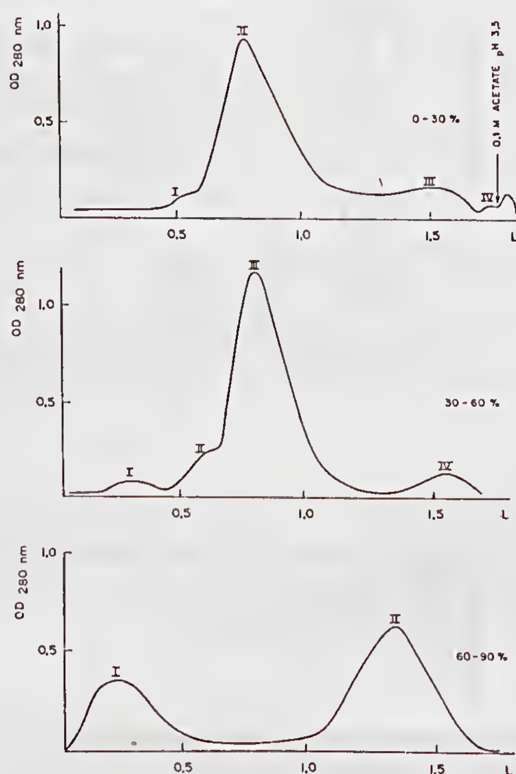



FIGURE 2. Sephadex G-75 chromatography of the 0-30, 30-60 and 60-90% ammonium sulfate fractions. The ammonium sulfate fractions obtained from 10g of venom were applied to a column (5 x 80cm) previously equilibrated with 0.1 M sodium chloride with 1 mM phosphate buffer pH 7.0 and eluted with the same buffer. In the 0-30% fraction the last peak was eluted with O.1M acetate buffer pH 3.5.

BERCOVICI, D.; CHUDZINSKI, A.M.; DIAS, W. de O ; ESTEVES, M.I.; HIRAICHI, E.; OISHI, N Y.; PICARELLI, Z.P.; ROCHA, M.C. da; UEDA, C.M.P.M.; YAMANOUYE, N.; RAW, I. A systematic fractionation of **Crotalus durissus terrificus** venom. **Mem. Inst. Butantan, 49**(3):69-78, 1987.

## B. ENZYME PURIFICATION

1. *Thrombin-like enzyme*: Fraction II of the 30-60% ammonium sulfate fraction (30-60-II), obtained by chromatography on Sephadex G-75, was taken to pH 9.0 and introduced into a column (2.5 x 8cm) of Sepharose-1-4-butenediol-diglycil-p- aminobenzamidine. After 15 minutes, the column was washed with 5 mM Tris buffer, pH 9.0 containing 0.4M sodium chloride, to remove the proteins that do not bind to the column (fraction 30-60-II-1); the enzyme was eluted with the same buffer containing 0.1M benzamidine (fraction 30-60-II-2). As previously described[15], this fraction is homogeneous by SDS-PAGE, with a molecular weight of 34 kDaltons.

2. *Phosphodiesterase*: Fraction 30-60-II-1 from the above purification step was chromatographed in a blue-sepharose column (figure 2) as described by Oka, Ueda and Hayshi[11]. Fractions containing the enzyme were pooled and the residual 5'-nucleotidase was removed by heating for 3 hours at 37°C in 1% acetic acid[7], resulting in a preparation that was homogeneous by SDS-PAGE, with a molecular weight of 105 kDaltons. Table I shows the yield.

TABLE 1. PURIFICACTION OF PHOSPHODIESTERASE BY AFFINITY CHROMATOGRAPHY

| fraction | protein mg | phosphodiesterase specific activity* | phosphodiesterase % yield |
|---|---|---|---|
| fraction 30-60-II-1 | 1040 | 0.17 | 100 |
| Blue-sepharose fractions | | | |
| 30-60-II-1A | 585 | 0.16 | 13.8 |
| 30-60-II-1B | 24 | 3.49 | 46.8 |
| 30-60-II-1B after acid-heat treatment | 22 | 1.21 | 22.8 |

*$U/A_{280}$nm

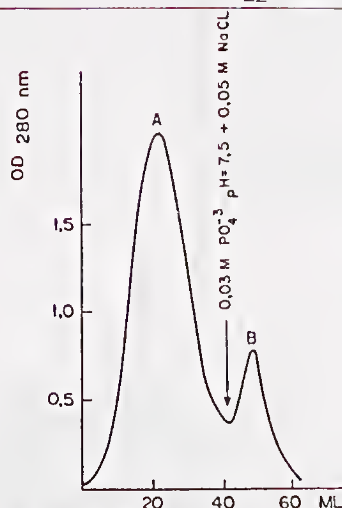



FIGURA 3. Separation of phosphodiesterase and 5-nucleotidase by blue-sepharose chromatography of fraction 30-60-II. 1.040mg of protein in 20ml was dialyzed against 5 mM phosphate buffer pH 7.0 in 0.05 M sodium chloride and introduced in a 1.5 x 15cm column previously equilibrated with the same buffer. The column was washed with the equilibrating buffer until all fraction A was removed and then fraction B, containing phosphodiesterase, was eluted with 0.03 M phosphate buffer pH 7.5 containing 0.05 M sodium chloride.

3. *5'-nucleotidase*: The fraction which was not retained by the blue-sepharose column (fraction 30-60-II-1A) was chromatographed on NAD-sepharose column (figure 3) as described by Tatsuki *et al*[16].

The yield is shown on table 2. The most active fractions (30-60-II 1A3) is homogeneous by SDS-PAGE with a molecular weight of 200 kDaltons. NAD-sepharose can be replaced by 5'-AMP-sepharose, but the purified enzyme has only half the specific activity.

TABLE 2. PURIFICATION OF 5'-NUCLEOTIDASE BY AFFINITY CHROMATOGRAPHY

| fraction | protein mg | specific activity* | % yield |
|---|---|---|---|
| Fraction 30-60-II-1 | 1040 | 1.74 | 100 |
| Blue-sepharose fractions | | | |
| 30-60 II-1A | 585 | 2.34 | 80 |
| 30-60 II 1B | 24 | 0 | 0 |
| NAD-sepharose fractions | | | |
| 30-60-II-1A1 | 530 | 0.68 | 20 |
| 30-60-II-1A2 | 52 | 16.85 | 48 |
| 30-60-II-1A3 | 2 | 76.30 | 7 |

*U/$A_{280}$nm

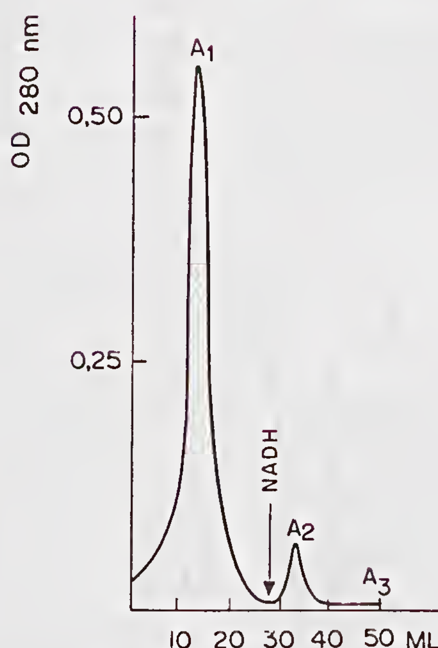



FIGURE 4. Affinity chromatography of 5'-nucleotidase. Fraction 30-60-II-1A containing 585mg of protein was introduced into NAD-sepharose column 1,5 x 5cm, previously equilibrated with 0.05M acetate buffer pH 7.0. The column was washed with the equilibrium buffer until all the first peak was eluted (A1), and then with 10ml of 0.2 M sodium bicarbonate buffer pH 8.6 containing 0.05 M NADH that eluted the enzyme (A2). After the collection of this peak, 6ml of effluent (A3), with very little protein (2mg) contained 5'-nucleotidase with the highest specific acvitity (76.3).

4. *Other enzymes*: The addition of crude venom to fibrinogen results in a transient clot, revealing the presence of a fibrinolytic and fibrinogenolytic activity, which is bound to sepharose-1-4-butenediol-d glycil-p-aminobenzamidine, but once eluted, is very unstable. This fraction has no thrombin-like activity. SDS-PAGE eletrophoresis of fibrinogen treated with this fraction[15] shows that it acts on the β-fibrinogen chain. A similar enzyme was described in the venom of *Trimerusurus mucrosquamatus* by Ouyang and Teng[12].

Fraction 0-30-I contains a small NAD-hydrolase activity (0.024 μmol/mg/min at 25°C) acting on $NAD^+$, $NADP^+$ and NADH. A similar activity was described for the venom of *Agkistrodon halys blomhoffii*, but it does not hydrolyze NADH[17]. L-amino acid oxidase is present in the fraction 30-60-I, but was not further purified.

By biological assay, fractions 30-60-I, 30-60-II and 30-60-III present a weak kallikrein-like activity. Fraction 30-60-III hydrolyzes DL-valyl-L-leucyl-L- arginine-p-nitroanilide with a specific activity of 0.23 μmol/min/mg of protein at 25°C. It has only 1/30 the activity with benzyl-L- prolyl-L-phenylalanyl-L-arginine-p-nitroanilide or benzyl-L-phenyl-L-valyl-L-arginine-p-nitroanilide as substrates. This indicates a tissue kallikrein-like activity[2]. It is unstable at pH 3.3 and thus destroyed in the CM-sephadex chromatography used for the isolation of crotoxin components from this fraction.

C. TOXINS

1. *Phospholipase A2* and *crotapotin*: These were isolated from the fraction 30-60-III, by suspending in 0.1M formic acid, removal of the insoluble protein followed by chromatography on CM-sephadex at pH 3,3 using a linear gradient of ammonium formiate between 0.1M and 3.M (figure 4) which separates phospholipase and crotapotin. When the fraction containing phospholipase A2 activity was mixed with about 1.5 times the concentration of crotapotin, all phospholipase activity was inhibited, as previously described by Breinthaupt[3]. A similar inhibition was shown to occur by adding crotapotin to the crude venom, suggesting that there is an excess of free phospholipase. No inibition of phospholipase activity present in *Bothrops jararaca, Bothrops moojeni* and *Tityus bahiensis* venom was observed.

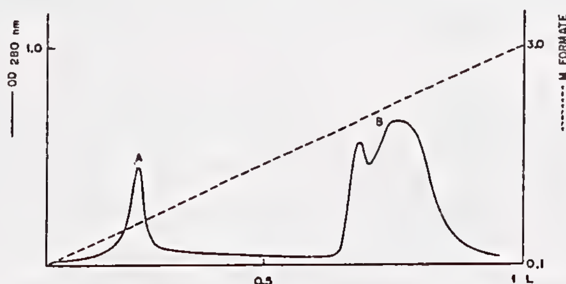



FIGURE 5. Purification of crotapotin and phospholipase A2 by chromatography on CM-sephadex. Fraction 30-60-III from 10g of venom in 0.1M formic acid was centrifuged to remove the insoluble protein, taken to pH 3.3 and introduced in a column (5 x 12cm), previously equilibrated with 0.1 M formate and eluted with a linear gradient between 0.1M and 3.0 M for 4 hours, at a rate of 80 ml/hour. Crotapotin is the peak A and phospholipase A2 is the peak B.

2. *Crotamine:* Crotamine was isolated from the 30-60-IV fraction by chromatography on CM-sephadex, at pH 7.0 (figure 5). Some crotamine can also be recovered by a similar chromatography of the 60-90-II fraction (figure 6). The fractions containing crotamine were pooled and precipitated with picric acid (Giglio, 1975). The preparation migrates as a single band on PAGE pH 4,0 and is crotoxin-free when assayed on young chickens. The yield was 380mg of protein.

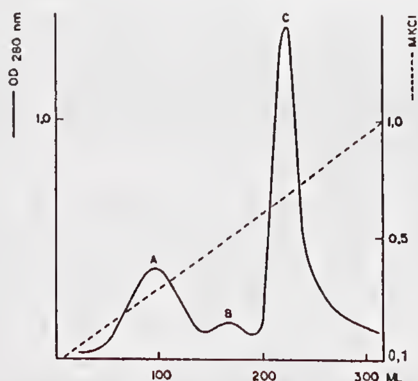



FIGURE 6. Purification of crotamine (C) and PM-toxin (B) by chromatography on CM-Sephadex. Fraction 30-60-IV from 30g of venom, previously dialyzed against 0.01 M phosphate buffer pH 7.0, was introduced in a column (5x 12cm), previously equilibrated with 0.1 M potassium chloride in 0.01 M Tris buffer pH 7.0. The column was eluted for 4 hours with a linear gradient between 0.1 and 1.0 M potassium chloride, at a rate of 80 ml/hour.

3. *Gyroxin*: Gyroxin activity was detected in the 60-90-I and 60-90-II fractions. In the CM-Sephadex chromatography of the fraction 60-90-II gyroxin is eluted in the first peak, while crotamine in the second (figure 5). This gyroxin fraction is homogeneous by SDS-PAGE, with a molecular weight of 35 kDaltons, which agrees with that found by Barrabin *et al*[1]. The yield was 45mg of protein.

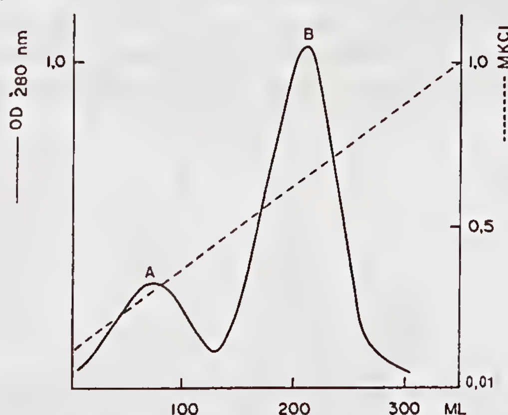



FIGURE 7. Purification of gyroxin (A) and crotamine (B) by chromatography on CM-Sephadex. Fraction 60-90-II from 30g of venom was dialysed against 0.01M phosphate buffer pH 7.0 and introduced in a column (5 x 12cm), previously equilibrated with 0.1 M potassium chloride in 0.01 M Tris buffer pH 7.0. The column was eluted for 4 hours with a linear gradient between 0.1 and 1.0 M potassium chloride, at a rate of 80 ml/hour.

4. Convulxin: Convulxin is present in the 0-30 fraction and in Sephadex G-75 chromatography some is eluted in the fourth peak, but most of the activity remains bound to the Sephadex, being eluted by acid[13] as a PAGE-SDS homogeneous fraction with a molecular weight of 68 kDaltons.

5. *PM-toxin*: In the chromatography of the 30-60-IV fraction on CM-Sephadex, a fraction was found (figure 5) that injected intravenously in 25g mice in sub-lethal dosis (less than 100 μg) produced a temporary excitation, with erratic walking. After that, and for about 1 hour, the mice jumped high and far when touched, and if placed inside a cage, would bump into the walls. At lethal dosis this fraction does not cause the typical muscular effects of crotoxin or crotamine in mice. PAGE of this fraction at pH 4 shows a single band and in 15% SDS-PAGE it migrated with an apparent molecular weight of 8,600 Daltons.

## D. PEPTIDE FRACTION

The peptide fraction was assayed for endorphine activity in mice, employing the hot place method of Woolfe *et al*[23], being negative up to 24 μg dry power/kg, whereas the effective dose of morphine under these conditions was 6 μg/kg. No activity was found on the motility of rabbit duodenum or jejunum, up to a concentration of 30 μg dry power/ml. On the electric stimulated ductus deferens of mouse[14] it shows an inhibitory effect at a concentration of 200 μg dry power/ml, which, however, was not reverted by 0.1 μM naloxone.

It is interesting to note that crotamine and the PM-toxin do not appear in the 10 kDalton filtrate. The distribution of proteins of the fraction 30-60% in the Sephadex G-75 column is also not as expected for their molecular weights. It is possible that, at least in the high concentrations used these proteins aggregate.

RESUMO; 1. O veneno de *C.d. terrificus* foi fracionado de forma a obter da mesma preparação: 5'- nucleotidase, fosfodiesterase, enzima tipo trombínico, fosfolipase A2, crotapotina, convulxina e giroxina. Todas estas proteínas foram purificadas até a homogêneidade a eletroforese em acrilamida na presença de dodecil-sulfato de sódio.

2. Em outras frações foram identificadas a presença de L-amino oxidase, atividade de kalikreina tipo tissular e NAD-hidrolase.

3. Uma das frações homogeneas apresentou uma atividade tóxica produzindo sintomas diferentes dos das toxinas conhecidas. Tem um peso molecular de 8.600 Daltons.

4. A atividade da fosfolipase A2 do veneno e das frações foi completamente inibida pela crotapotina, e esta inibição é específica para a fosfolipase do veneno do Crotalus, e não ocorre com a atividade de fosfolipase A2 do veneno da *Bothrops jararaca, Bothrops moojeni* e *Tityus bahiensis*.

PALAVRAS-CHAVE: veneno *Crotalus*, toxinas, enzimas, fosfolipase A2

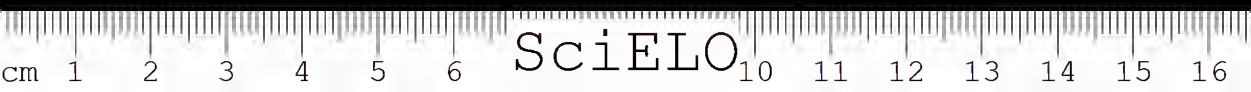




## BIBLIOGRAPHIC REFERENCES


1. BARRABIN, H.; MARIAREMA, J.L.; VIDAL, J.C.; BARRIO, A. Isolation and characterization of gyroxin from *Crotalus durissus terrificus* venom. *Toxicon, 18.* 235-247, 1980.
2. BARRETT, A. J. & McDONALD, J. K. *Mammalian proteases*; a glossary and bibliography. New York, Academic Press, 1982. v. 1: Endopeptidases. 416p.
3. BREITHAUPT, H. Enzymatic characteristics of Crotalus phospholipase A2 and the crotoxin complex. *Toxicon, 14:* 221-223, 1976.
4. BREWER, J.M.; PESCE, A. J.; ASHWORTH, R. N. *Experimental techniques in biochemistry.* New Jersey, Prentice Hall, 1974.
5. CLAESON, G.; FRIBERGER, P.; KNOS, M.; ERIKSON, E. Methods for determination of prekallikrein in plasma, glandular kallikrein and urokinase. *Haemostasis, 7:*76-78, 1978.
6. COTTI, M. M. & KAPLAN, N. O. Procedures for determination of pyridine nucleotides. *Methods in Enzymology, 3:*80-84, 1957.
7. DOPLACHIEV, L. B.; SULKOWSKI, E.; LASKOSKI SR, M. Purification of exonuclease (phosphodiesterase) from the venom of *Crotalus adamanteus. Biochem. Biophys. Res. Comm., 61:*273-281, 1974.
8. GIGLIO, J. R. Analytical studies on crotamine hydrochloride. *Analytical Biochem., 69:*207-221, 1975.
9. GRASSMAN, W. & HANNING, K. Elektrophoretische Untersuchugen as Schlang-und Insektetoxin. *Hope-Seyler's Zeitchchrift fur Physiologische Chemie, 296:*30-38, 1954.
10. HENRIQUES, O. B.; LAVRAS, A.A.C.; FICHMAN, M.; PICARELLI, Z.P. Plasma enzymes that release kinins. *Bioch. Pharmac., 15:*31-40, 1966.
11. OKA, J.; UEDA, K.; HAYSHI, P. Snake venom phosohodiesterase: a simple purification with blue-sepharose and its application to poly (ADP-ribose), study. *Biochem. Biophys. Res. Commun., 80:*841-848, 1978.
12. OUYANG, C. & TENG, C. M. Fibrinogenolytic enzymes of *Trimeresurus mucrosquamatus* venom. *Biochim. Biophys. Acta., 420:*298-308, 1976.
13. PRADO-FRANCESCHI, J. & BRAZIL, O. V. Convulsin, a new toxin from the venom of South American rattlesnake *Crotalus durissus terrificus. Toxicon, 19:*875-887, 1981.
14. RAE, G. A.; PALERMO NETO, J.; DE MORAIS, S. Noradrenaline supersensitivity of mouse vas deferens after long-term treatment with morphine. *J. Pharma. Pharmacol., 29:* 310-312, 1977.
15. RAW, I.; ROCHA, M. C.; ESTEVES, M. I.; KAMIGUTTI, A.S. Isolation and characterization of a thrombin-like enzyme from the venom of *Crotalus durissus terrificus. Brazilian J. Med. Biol. Res., 19:* 333-338, 1986.
16. TATSUKI, T.; IWANNAGA, S.; SUZUKI, T. A simple method for the preparation of snake phosphodiesterase almost free of 5' — nucleotidase. *J. Biochemistry* (Tokyo), *77:* 831-836, 1975.
17. TATSUKI, T.; IWANAGA, A.; OSHIMA, G.; SUZUKI, T. Snake venom NAD Nucleoside: its occurence in the venom from genus Agkistrodon and purification and properties of the enzyme from *A. Halys blomhoffii. Toxicon, 13:* 211-220, 1975.
18. TU, A. T. *Venoms: chemistry and molecular biology*, New York, J. Willey & Son, 1977.
19. TU, A. T. *Rattlesnake venoms: their actions and treatment*, New York, Marcel Deker, 1982.
20. VARGAFITG, B.B.; JOSEPH, D.; WAL, D.; MARLAS, G.; CHIGNAR, M.; CHEVANCE, L. G. Convulsin-induced activation of intact and thrombin-degranulated rabbit platelets;specific corssed desensitisation with collagen. *European J. Pharmacol., 92:* 57-68, 1983.
21. WELLNER, D. L-amino acid oxidase (snake venom). In: COLOWICH, S.P. & KAPLAN, N.O. *Methods in enzymology.* New York, Academic Press, 1971. v. 17B. p. 597-600.
22. WERKE, E.; GOTZE; W.; KEPPLER, A. Uber die Wirkung des Kallikreins auf den isolierten Darm und ubber eine neue darmkontrahierende substanz. *Biochemische Zeitschrift, 289:* 217-233, 1937.
23. WOOLFE, G. & MAC DONALD, A. D. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). *J. Pharm. Exp. Therap., 80:* 306-307, 1944.



Mem. Inst. Butantan
49(3):79-86, 1987.

# ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SOBRE CERCÁRIAS NATURALMENTE ENCONTRADAS EM *BIOMPHALARIA TENAGOPHILA* (ORBIGNY, 1835), CAPTURADAS EM LOUVEIRA, SP.

Soely Maria Pissini MACHADO *
Nelson da Silva CORDEIRO
Paulo de Toledo ARTIGAS
Luiz Augusto MAGALHÃES

RESUMO: O exame parasitológico efetuado em numerosos exemplares de Biomphalaria tenagophila (Orbigny, 1835), capturados em Louveira, SP, revelou o parasitismo por cinco diferentes espécies de digenéticos, não sendo infreqüente o parasitismo contemporâneo por mais de uma espécie. Foi feito um estudo comparativo entre as cercárias ora encontradas e as descritas por Ruiz[5,6,7] em *B. tenagophila* e *B. glabrata* (Say, 1818). Opinam os A.A. que as cercárias por eles encontradas não se ajustam às descritas por Ruiz[5,6,7].
PALAVRAS-CHAVE: Mollusca, cercárias, esporocistos, rédias.

## INTRODUÇÃO

Em propriedade rural em que se desenvolve, para fins comerciais, a criação de peixes, sobretudo de peixes ornamentais de aquário, há alguns anos, tem sido colhido exemplares de *B. tenagophila* (Orbigny, 1835), utilizados em trabalhos sobre *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 e sobre xistosomose *mansoni*.

Verificamos a presença freqüente de exemplares desses moluscos apresentando poliparasitismo, por formas larvárias de espécies diferentes de trematódeos digenéticos.

A susceptibilidade natural de planorbídeos, como hospedeiros intermediários, contemporaneamente, de diferentes digenéticos, parasitas, na fase adulta, de peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos, é sobejamente conhecida.

Departamento de Parasitologia — Universidade Estadual de Campinas.
Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.
Trabalho realizado com o auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).
Endereço para correspondência: Caixa Postal: 6109, CEP 13081, Campinas, SP, Brasil.





Neste setor, no Brasil, tem que ser dada ênfase aos trabalhos de Ruiz[5,6,7] que verificou, em diferentes zonas do território nacional, a existência deste multiparasitismo contemporâneo em *Biomphalaria* sp., de Santos, SP, e de *B. glabrata* (Say, 1818), de Jaboticatubas, MG. Aliás, esta condição biológica fora entrevista por dois autores nacionais (Moura[3] e Coutinho[1]), que não deram maior importância a tal verificação.

Em *Biomphalaria* sp. (muito possivelmente *B. tenagophila)* de populações da cidade de Santos, SP, Ruiz[5] encontrou as seguintes cercárias:

1. Cercárias de *S. mansoni.*
2. Cercárias de *Paryphostomum segregatum* Dietz, 1909.
3. *Cercaria lutzi*, 1943.
4. *Cercaria santense.*
5. *Cercaria hemiura.*

Supôs Ruiz[5] que *Cercaria lutzi* fosse a última forma larvária de *Neochaemotolochus neivai*, (Travassos & Artigas[8]) (= *Pneumonoeces neivai*), a qual já teria sido observada por Lutz[2]. Ruiz[5] não relacionou *C. santense* com qualquer digenético adulto. Quanto à *C. hemiura*, uma cistocercária, supôs ser antecessora larvar de *Halipegus dubius* Kelin, 1905.

*Em B. glabrata* de Jaboticatubas, MG, Ruiz[6] encontrou e descreveu o seguinte material:

1. Cercária de *S. mansoni.*
2. *Cercaria macrogranulosa* (uma equinostomocercária).
3. *Cercaria minense* (uma xifidiocercária).
4. *Cercaria acaudata* (uma cercariaeum de Cyclocoelidade)

Tivemos a oportunidade de tornar a verificar o poliparasitismo de *B. tenagophila* em uma população confinada desse molusco e sem a presença de larvas de *S. mansoni.* Foi, então, aproveitada a oportunidade de se estudar a eventual incompatibilidade de desenvolvimento contemporâneo de larvas de *S. mansoni* na presença de larvas de outros digenéticos num mesmo molusco. Este estudo será assunto de trabalho que completará o presente.

## MATERIAL E MÈTODO

Os exemplares de *B. tenagophila* foram, invariavelmente, colhidos no mesmo local, no município de Louveira, SP, onde peixes ornamentais são criados em grandes tanques construídos artificialmente e com água proveniente de um ribeirão localizado na cabeceira da propriedade; cada tanque tem uma superfície, aproximada, de 200-300m$^2$.

Nessa propriedade a fauna silvestre bastante abundante, sem ser perseguida e molestada, é representada por mamíferos (sobretudo pequenos roedores), aves aquáticas e terrestres, répteis (sobretudo ofídeos aquáticos comedores de peixe).

Convivendo com esta fauna, existe uma população, em pleno desenvolvimento, de *B. tenagophila.*

Assim é que, num limitado habitat, de uns poucos hectares, estão ajustadas todas as condições, inclusive as climáticas, favoráveis ao encontro de moluscos portadores, na fase larvar, de trematódeos digenéticos.

Foram efetuadas, num espaço de quatro meses, várias capturas de *B. tenagophila*, todas elas com resultados positivos, com bom número de exemplares colhidos.

Esses moluscos eram levados, sem demora para o laboratório e distribuídos em grandes cristalizadores, com água corrente, não clorada e alimentados com folhas de alface.

Foram submetidos, um a um, ao exame rotineiro para a verificação da presença de cercárias: cada molusco sendo colocado num pequeno frasco (tubo de Borrel), com água, e, a uma certa distância, colocada uma lâmpada elétrica acesa, durante trinta minutos.

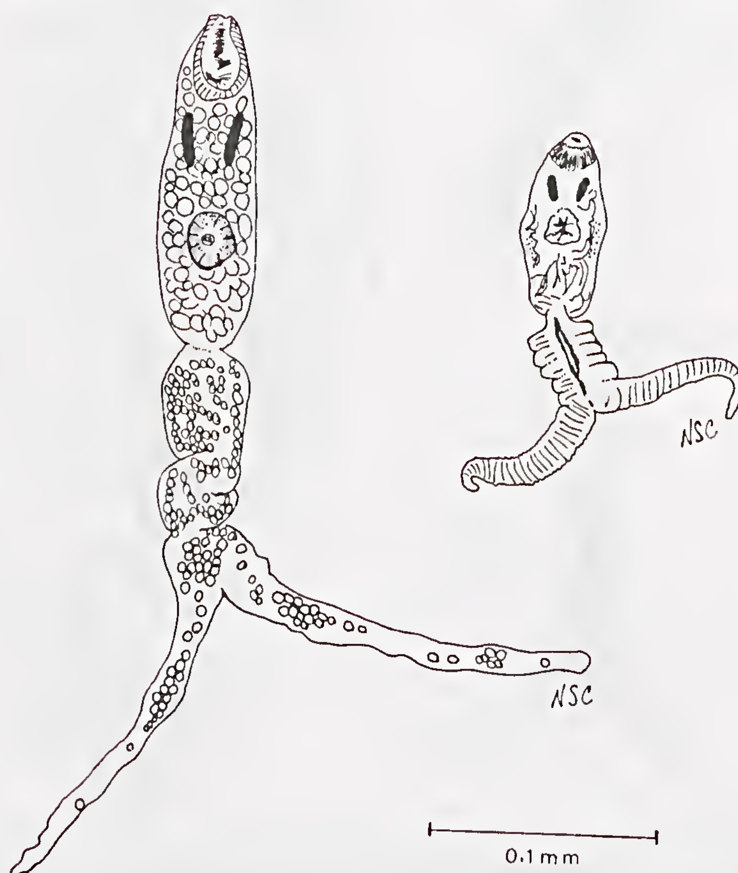
Positivada a presença de cercárias, eram estas examinadas vivas ao microscópio e feitos desenhos, com auxílio de câmara clara. As cercárias obtidas eram fixadas, para observação posterior, em líquido de Bles.

Foram, a título preliminar, feitas algumas verificações, através da dissecção de moluscos, para esclarecer localização e sucessão dos estágios biológicos dos parasitas encontrados.

## RESULTADOS

Foram encontradas as seguintes cercárias:

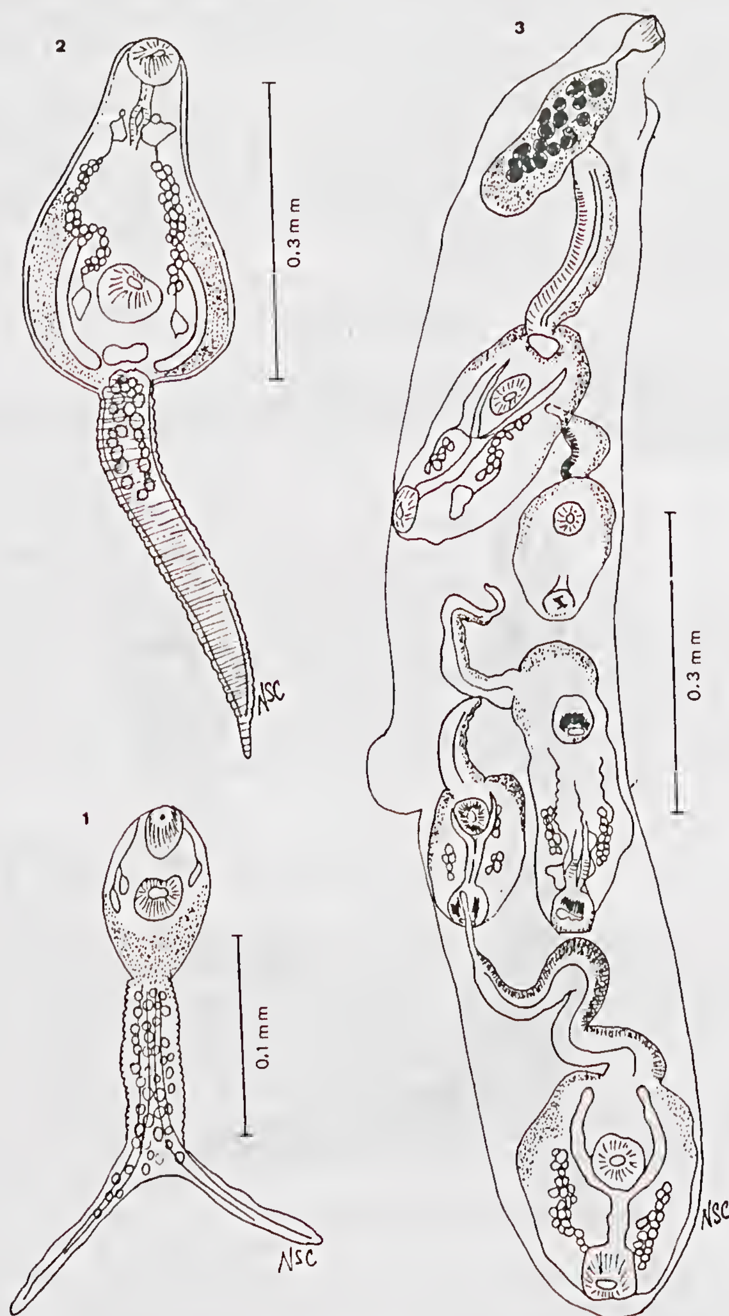
a. Furcocercárias oceladas, de cauda relativamente curta e longas furcas (PRANCHA I).




PRANCHA I — Furcocercária ocelada longifurcada: desenhos com a cercária em extensão e com a cercária encolhida.

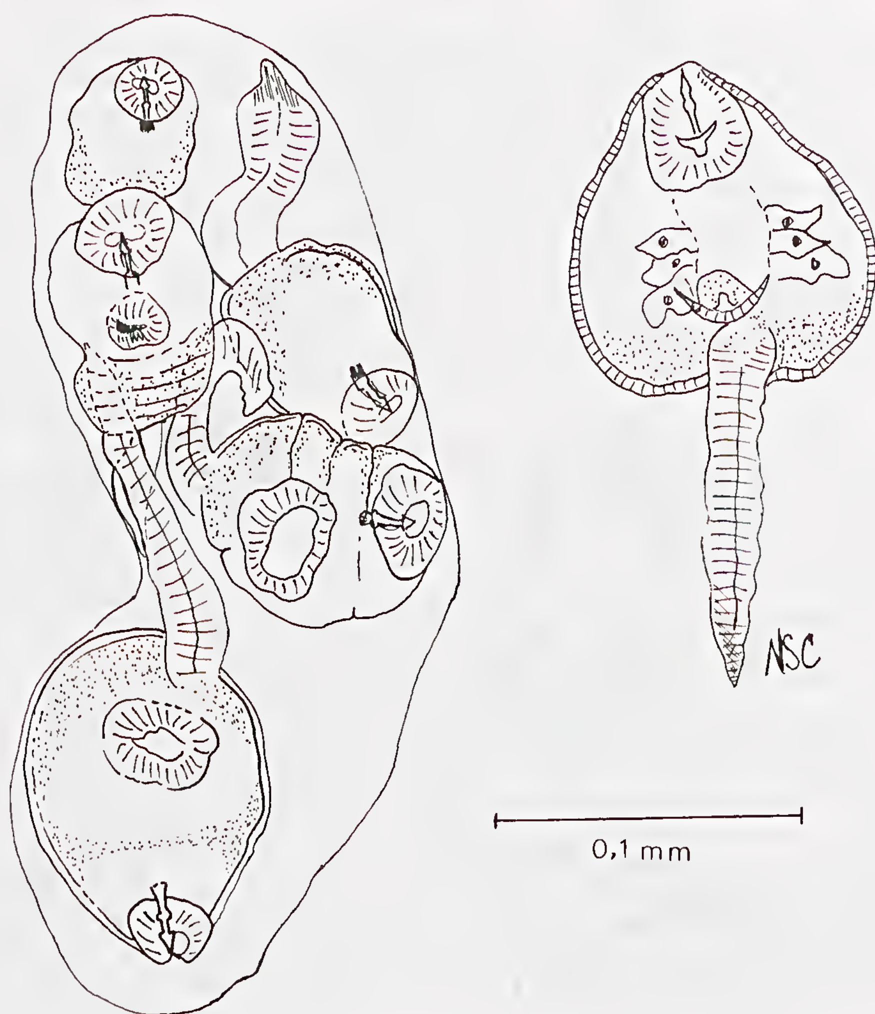
b. Furcocercárias não oceladas, de cauda relativamente curta e longas furcas (PRANCHA II, Fig. 1.).

c. Cercárias distômicas sem acúleo (PRANCHA II, Figs. 2 e 3).



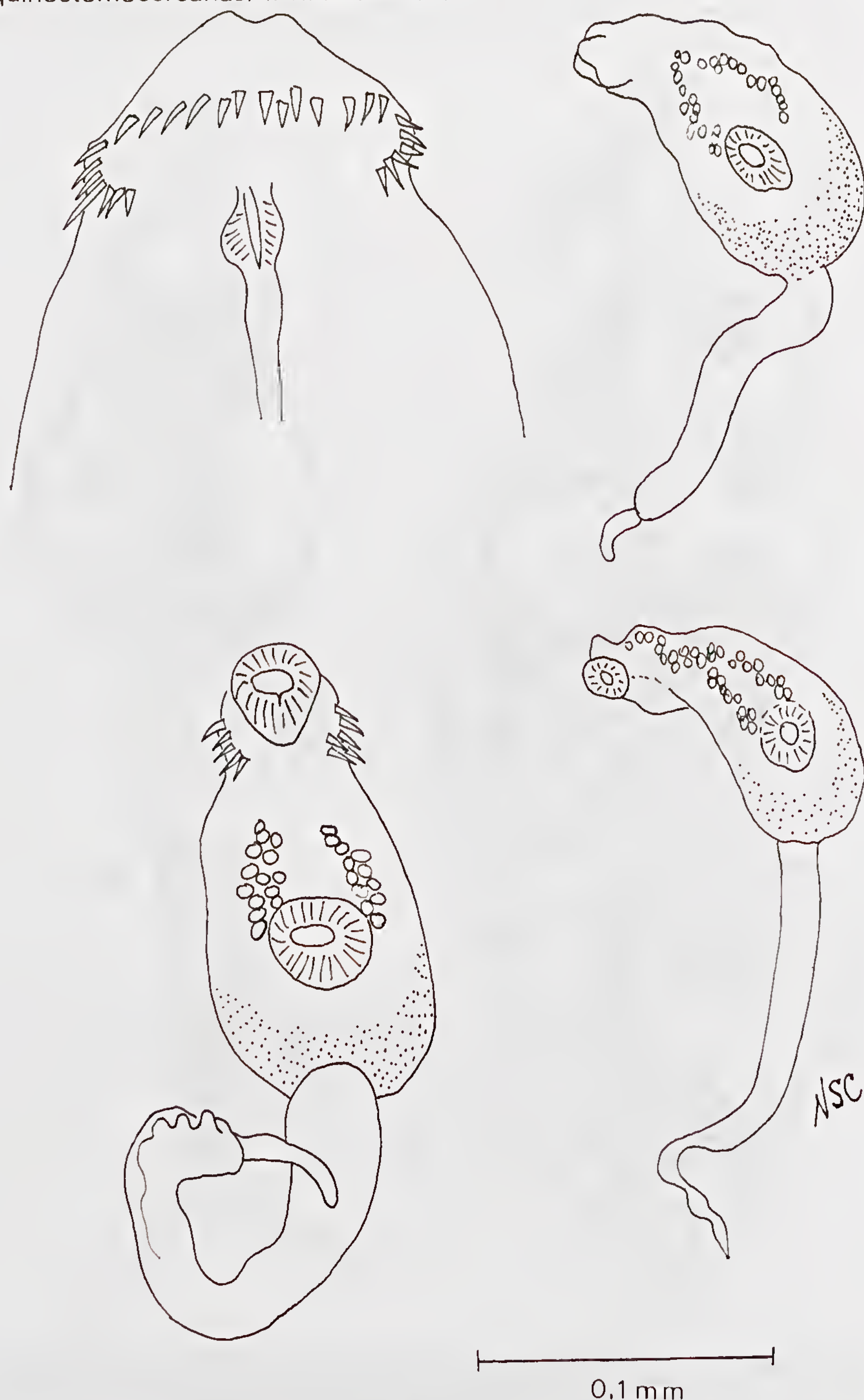

PRANCHA II — 1. Furcocercária sem ocelos e longifurcada. 2. Distomocercária sem acúleo, caracterizada pela extremidade caudal terminando em ponta estreita e afilada. 3. Rédia alongada e com número pequeno de cercárias sem acúleos.

d. Cercárias distômicas com acúleo (xifidiocercárias) (PRANCHA III).




PRANCHA III — Distomoxifidiocercárias com acúleo oral. A cercária se forma em esporocisto brancacento, contendo até cerca de 25 cercárias. Cercárias muito móveis e se libertando através de ruptura do espocisto pelo estilete oral. A cercária livre evolui rapidamente para a forma de cercária encistada.

e. Cercárias dotadas de colar de acúleos na região da ventosa anterior (equinostomocercárias) (PRANCHA IV).




PRANCHA IV — Detalhe da extremidade anterior de Equinostomocercária. Equinostomocercárias em várias posições.

A infecção natural dos moluscos é, com maior freqüência, monoespecífica (96,65%). Verificou-se a presença de poliparasitismo contemporâneo, com percentual menor (3,35%). Equinostomocercárias e furcocercárias oceladas foram observadas conjuntamente; também foram encontrados moluscos portadores de furcocercárias oceladas e sem ocelos, bem como de distomocercárias e furcocercárias. Nessa população de *B. tenagophila*, até o presente, não foi positivada a presença de larvas de *S. mansoni*.

## DISCUSSÃO

Interessa destacar o complexo ecológico que deu ensejo à presente comunicação: um conjunto de cerca de doze grandes criadouros de peixes, cada um constituído por um grande tanque com área de 200m$^2$, com água corrente de velocidade reduzida e temperatura ambiente média de 25-35°C; a fauna é representada por roedores, aves aquáticas e terrestres, anfíbios, ofídios (sobretudo de hábitos aquáticos). Um conjunto de condições excelentes para a consecução do ciclo biológico de digenéticos.

Numa apreciação preliminar comparativa entre as larvas encontradas por nós, em Louveira, SP e as encontradas por Ruiz[5,6], em Santos, SP, e Jaboticatubas, MG, há alguns aspectos que devem ser destacados: 1. As cercárias descritas por Ruiz[5,6,7] não parecem ser as observadas em Louveira; 2. Ruiz[5,6,7] não encontrou furcocercárias longifurcadas (cercárias de *strigeiformes*).

O pesquisador que se interessar pelos estudos das larvas de digenéticos encontradas em planorbídeos, terá, certamente, que se haver com um contingente maior que o atualmente conhecido. Recorde-se, de passagem, que Ueta et alii[10], encontraram em *B. tenagophila*, proveniente do Vale do Rio Paraíba, um anfistomocercária, cuja forma adulta foi obtida em roedores de laboratório.

Na verdade, os planorbídeos da área territorial brasileira, amplamente distribuídos, devem ser hospedeiros intermediários de numerosas espécies de digenéticos, já conhecidos e apresentados por Travassos et alii[9].

É pouco conveniente dar nomes a cercárias; na verdade, as rígidas normas que regem a taxonomia demonstram o desacerto de tal procedimento, por diversas razões. Suponhamos que esta, ou aquela cercária seja ajustada a uma determinada forma adulta já classificada, torna-se mais um sinônimo na longa sinonímia helmintológica.

Suponhamos, ainda, que um determinado digenético, convenientemente identificado, venha a ser reconhecido como fase final da evolução de uma cercária anteriormente conhecida e com denominação já estabelecida na sistemática; a designação da forma adulta entraria no rol de sinônimos e a da cercária, por direito de precedência no tempo, deverá ser transferida para o distomo adulto.

## CONCLUSÕES

1. Não se ajustam, morfologicamente, as cercárias referidas neste trabalho, às cercárias descritas em *B. tenagophila*, por outros autores brasileiros.





2. Foram encontradas, isoladamente ou em parasitismo contemporâneo, cercárias de distomídeos (distomocercárias e distomoxifidiocercárias); cercárias de equinostomídeos (equinostomocercárias); furcocercárias longifurcadas, com ou sem ocelos.

3. É reassinalada a capacidade da *B. tenagophila* (Orbigny, 1835), de albergar, como hospedeiro intermediário, diversas espécies de digenéticos e, eventual e contemporaneamente, estar parasitada com mais de uma espécie.

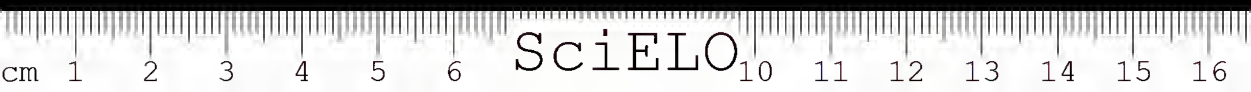
ABSTRACT: Parasitological examination of several specimens of *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835), captured in Louveira, SP, Brazil, has detected five different larval forms of digenetic flukes, and with some frequency, simultaneous polyparasitism. Comparative studies among these, cercariae and the cercariae described by Ruiz[5,6,7] from *B. tenagophila and B. glabrata* (Say, 1818), have been made. The authors concluded that the cercariae now detected are not the same species described by Ruiz[5,6,7].
KEYWORDS: Mollusca, cercariae, sporocysts, redia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COUTINHO, J. de O. Contribuição para o estudo do hospedador intermediário do *Schistosoma mansoni* em Santos, São Paulo. **Rev. clín. S. Paulo, 25** (3/4): 31-38, 1949.
2. LUTZ, A. Caramujos de água doce do gênero *Planorbis* observado no Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 10** (1): 65-82, 1918.
3. MOURA, S.A.L. Esquistossomose mansoni autóctone em Santos. **Rev. Inst. Adolfo Lutz, 5** (2): 279-311, 1945.
4. NARUTO, T. **Guia para identificação de cercárias.** (Trabalho do Laboratório de Malacologia da Superintendência de Controle de Endemias — SUCEN). São Paulo, 1984. 61p.
5. RUIZ, J.M. Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 2. Fauna de Santos. **Mem. Inst. Butantan, 24** (1): 17-36, 1952.
6. RUIZ, J.M. Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 3. Fauna de Belo Horizonte e Jaboticatubas, Estado de Minas Gerais. **Mem. Inst. Butantan, 24** (1):45-62, 1952.
7. RUIZ, J.M. Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 5. Descrição de três furcocercárias que ocorrem em planorbídeos hospedeiros do *Schistosoma mansoni*. **Mem. Inst. Butantan, 25** (2): 77-89, 1953.
8. TRAVASSOS, L. & ARTIGAS, P. de *T. Pneumonoeces neivai* n. cs., trematódeos do pulmão de rã. **Bol. Biológico, 10:** 212-214, 1972.
9. TRAVASSOS, L.; FREITAS, J.F.T.; KOHN, A. Trematódeos do Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 27:** 1-886, 1969.
10. UETA, M.T.; DEBERALDINI, E.R.; CORDEIRO, N. da S.; ARTIGAS, P. de T. Ciclo biológico de *Paraibatrema inesperata* n.g., n.sp. (Trematoda, Paramphistomidae), a partir de metacercárias desenvolvidas em *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) (Mollusca, Planorbidae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 76** (1): 15-21, 1981.

Recebido para publicação em 27/4/1987 e aceito em 13/7/1987.





Mem. Inst. Butantan
49(3):87-95, 1987.

# CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO TAXONÔMICO DOS ESCORPIÕES ASSOCIADOS AO GRUPO *TITYUS MELANOSTICTUS* POCOCK, 1893 (SCORPIONES, BUTHIDAE).

Wilson R. LOURENÇO*
Vera Regina D. von EICKSTEDT**

RESUMO: È feita uma análise sistemática em torno de *Tityus melanostictus* Pocock, 1893 e espécies associadas: *Tityus engelkei* Pocock, 1902, *Tityus strandi* Werner, 1939, *Tityus charalaensis* Mello-Leitão, 1940 e *Tityus gasci* Lourenço, 1981. São redescritas *T. melanostictus* e *T. engelkei* e diversas considerações são feitas sobre as três outras espécies.
PALAVRAS-CHAVE: Taxonomia de escorpião; *Tityus melanostictus* Pocock, 1893; *Tityus engelkei* Pocock, 1902; *Tityus strandi* Werner, 1939; *Tityus charalaensis* Mello-Leitão, 1940; *Tityus gasci* Lourenço, 1981.

## INTRODUÇÃO

Em razão da complexidade do gênero *Tityus*, a revisão de suas espécies é praticamente impossível de ser realizada em um único trabalho. Uma solução aparentemente válida é a revisão dos grupos naturais que podem ser estabelecidos dentro desse gênero. Essa alternativa vem sendo utilizada para diversos grupos como *Tityus trivittatus* (Lourenço[1]), *Tityus stigmurus* (Lourenço[3]) e *Tityus clathratus* (Lourenço[8]).

As tentativas de subdividir o gênero *Tityus* em grupos, feitas por autores anteriores como Mello-Leitão[16,17,19], nem sempre foram fundamentadas no estudo do material-tipo, o que levou a decisões teóricas que não concordam com a realidade das espécies. *Tityus melanostictus* é colocada no grupo *Tityus clathratus* (grupo-A) por Mello-Leitão[16]; em 1939, o mesmo autor colocou essa espécie em um grupo contendo *Tityus paraguayensis, T. parvulus, T. pusillus, T. silvestris* etc. e a associou estreitamente a *Tityus amazonicus.* Em 1945, Mello-Leitão propôs um grupo-D para *Tityus*

* Laboratoire de Zoologie (Arthropodes). Muséum National d'Histoire Naturelle. 61, rue de Buffon. 75005, Paris, França.
** Seção Artrópodos Peçonhentos. Instituto Butantan. C. P. 65. CEP 05504, São Paulo, SP, Brasil.

*melanostictus*, que incluía também *T. inespectatus* e *T. amazonicus*.

No recente trabalho sobre as espécies do grupo *T. clathratus*, Lourenço[8] demonstrou que *T. melanostictus* não possui nenhuma afinidade com as espécies desse grupo; por outro lado, o estudo de exemplares de *T. inespectatus* (Armas [1]) demonstrou que essa espécie aparece como uma forma isolada dentro do gênero e a revisão das espécies descritas do Pará permitiu concluir que *T. amazonicus* é sinônima de *T. cambridgei*, espécie bem distinta de *T. melanostictus* (Lourenço[9]).

Os resultados até agora obtidos no inventário das espécies descritas do gênero *Tityus*, que está sendo realizado pelo primeiro autor, permitem associar *T. melanostictus* a *T. engelkei* Pocock, 1902 e *T. charalaensis* Mello-Leitão, 1940. *T. engelkei* é associada por Mello-Leitão[16,19] às espécies do grupo *bahiensis*, embora em 1939 esse autor a tivesse colocado num grupo diferente, contendo *T. dasyurus, T. metuendus, T. pachyurus* e *T. pugilator*. Trabalhos mais recentes demonstraram entretanto que *T. bahiensis, T. uniformis, T. rufofuscus* (Lourenço[6]), *T. costatus* (Lourenço e Eickstedt[12]), *T. footei, T. pugillator* (Lourenço e Maury[14]), *T. pachyurus* (Lourenço e Méndez[15]), *T. metuendus* (Lourenço[7]) e *T. dasyurus* (Lourenço e Francke[13]) não possuem afinidade com *T. engelkei*. Quanto à *T. charalaensis*, Mello-Leitão[19] associou-a com *T. evandroi*, espécie mal caracterizada, provavelmente sinônima de *T. cambridgei* (Lourenço[9]) e a *T. strandi* que, embora apresente diferenças em relação às espécies citadas para o grupo *T. melanostictus*, deve ser incluída nesse grupo (Lourenço[4]).

Duas outras espécies aproximam-se do grupo *T. melanostictus*: *T. gasci*, descrita da Guiana Francesa (Lourenço[5]) e *T. discrepans* que, no entanto, não deve ser incluída nele por apresentar uma única crista mediana ventral nos segmentos metassomáticos.

Neste trabalho são redescritas as espécies *T. melanostictus* e *T. engelkei* e é feita uma tentativa de diagnose da espécie *T. charalaensis*, conhecida unicamente pelo exemplar tipo, que está perdido. O estudo de um novo material de *T. strandi e T. gasci*, proveniente de diversas localidades amazônicas, permitiu estabelecer que essas duas espécies apresentam populações polimórficas.

Diagnose do grupo *Tityus melanostictus*.

*Tityus melanostictus* Pocock, 1893
*Tityus engelkei* Pocock, 1902
*Tityus strandi* Werner, 1939
*Tityus charalaensis* Mello-Leitão, 1940
*Tityus gasci* Lourenço, 1981

Escorpiões variando de 40 a 75mm de comprimento total. Colorido amarelado claro, com algumas manchas sobre as pernas e eventualmente nos pedipalpos; tergitos com zonas confluentes ligeiramente mais escuras; segmentos IV e V do metassoma paralelas; cristas dorsais podendo apresentar um ou mais grânulos espiniformes. Lâmina intermédia basilar dos pentes da fêmea dilatada.

LOURENÇO, W.R. & EICKSTEDT, V.R.D von. Contribuição ao conhecimento taxonômico dos escorpiões associados ao grupo **Tityus melanostictus** Pocock, 1893 (Scorpiones, Buthidae). **Mem. Inst. Butantan, 49**(3):87-95, 1987.

Redescrição de *Tityus melanostictus* Pocock, 1893

(Tabela 1)

*Tityus melanostictus* Pocock, 1893, *J. Linn. Soc., 24*:381.
*Tityus melanostictus*: Kraepelin, 1899, *Das Tierreich*, 8:84.
*Tityus melanostictus*: Werner, 1939, *Festsch. Prof. E. Strand*, *5*:352.
*Tityus melanostictus*: Mello-Leitão, 1945, *Arq. Mus. Nac.*, 40:339.
*Tityus melanostictus*: Lourenço, 1984, *Bull. Mus. natn. Hist. nat. Paris*, 4è sér., *6*, sect. A (2):354.

Macho-tipo

Colorido geral amarelo com manchas escuras difusas sobre o corpo, pernas e pedipalpos. Prossoma amarelo com manchas esparsas. Mesossoma com três manchas longitudinais sobre os tergitos I a VI. Metassoma com todos os segmentos manchados ventralmente; segmentos I a IV amarelos; segmento V e télson avermelhados; base do aguilhão avermelhada, ponta denegrida. Esternitos amarelados com zonas pardas difusas. Pentes, opérculo genital, esterno, ancas e processo maxilar amarelo-claros. Pernas com manchas escuras sobre fundo amarelo-claro; pedipalpos de colorido semelhante ao das pernas; dedos avermelhado-escuros. Quelíceras com um retículo escuro intenso; margem anterior denegrida; dedos denegridos, dentes avermelhados.

*Morfologia.* Prossoma ligeiramente estreitado na parte anterior, borda frontal com leve chanfradura. Cômoro ocular anterior em relação ao centro da placa prossomial; olhos medianos separados por mais que um diâmetro ocular. Três pares de olhos laterais. Cristas oculares medianas, oculares laterais e cristas posteriores, vestigiais. Granulação da placa prossomial pouco acentuada, os grânulos situando-se principalmente na zona anterior. Granulação dos tergitos semelhante à do prossoma. Crista axial presente sobre todos os tergitos. Metassoma: segmentos I a IV com oito cristas pouco acentuadas; segmento V com cinco cristas; tegumento entre as cristas liso nos três primeiros segmentos e com granulação fina nos dois últimos. Cristas dorsais pouco acentuadas e sem grânulos espiniformes. Télson com uma crista ventral e grânulos esparsos sobre as faces laterais e ventral; espinho ventral do aguilhão bem desenvolvido, agudo, com dois grânulos dorsais. Pentes com 16-16 dentes. Pedipalpos: fêmur com cinco cristas, a anterior com grânulos espiniformes; tíbia com sete; a crista interna da tíbia com grânulos espiniformes basais bem desenvolvidos. Pinça com cristas vestigiais; gume do dedo móvel com um lobo basal conspícuo e 12-12 séries de grânulos; dedo fixo com 10-10 séries de grânulos. Quelíceras com a dentição característica dos Buthidae (Vachon[22]): dedo fixo com um dente basal e dedo móvel com dois. Tricobotriotaxia do tipo A-alfa (Vachon[23,24]).

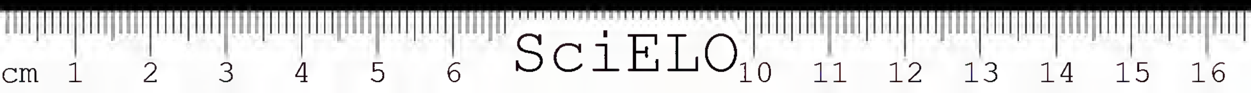
*Fêmea-tipo* (?) — Diferenças em relação com o macho.

Cristas e granulações do tegumento da fêmea mais acentuadas. Pinças mais finas que as do macho, sem lobo basal no dedo móvel. Pentes com a lâmina intermédia basilar fortemente dilatada.

Variações encontradas em outros exemplares estudados:

De Caracas: 4 fêmeas com 14-15, 14-13, 14-14, 12-12 dentes nos pentes e 15-15, 14-12, 13-13, 12-12 séries de grânulos no dedo móvel e 12-12, 10-10, 11-10, 10-10 no dedo fixo. De Maracay: 1 macho com 15-15 dentes nos pentes e 14-14/12-12 séries de grânulos nos dedos móvel e fixo. 1 macho





imaturo com 15-16 dentes nos pentes e 14-14/12-12 séries. 2 fêmeas com 15-15 e 15-16 dentes e 13-14/12-12, 15-15/13-13 séries de grânulos. 1 macho com 14-15 dentes e 14-14/12-12 séries de grânulos. De Trinidad: 2 machos com 16-16 e 16-17 dentes e 14-14/12-12 séries de grânulos. 2 fêmeas com 15-15 e 16-16 dentes e 15-15/13-13, 14-14/13-13 séries de grânulos. 1 fêmea (imatura) com 16-15 dentes e 14-14/13-13 séries de grânulos.

Material estudado

*Trinidad*: BMNH-1895.8.12.8.10, 1 macho, 1 fêmea (tipos), J. H. Hart leg.; MNHN-RS-3380, 1 macho, 1 fêmea, 1 macho-imaturo, P. Serre leg., 1914. *Majuba Road, Petit Valley, Diego Martins*: MNHN-RS, 1 fêmea, T. H. E. Atkin coll., 1/VII/1960. *Vallée du Naricual*: MNHN-RS-0821, 1 macho, Chapet leg., 1885. *Venezuela: Caracas*: MNHN-RS-0815, 4 fêmeas, Toyar coll. *Maracay*: MNHN-RS-3578, 1 macho, P. C. Vogl coll., 1936; MNHN-RS-7931, 1 macho, 2 fêmeas, 1 macho imaturo, C. F. Roewer, 1943.

## Redescrição de *Tityus engelkei* Pocock, 1902.

(Tabela 1)

*Tityus engelkei* Pocock, 1902, *Ann. Mag. Nat. Hist.*, ser. 7, *10*: 378
*Tityus engelkei*: Mello-Leitão, 1945, *Arq. Musc. Nac.*, *40*: 386.

Macho de Santa Marta, Colômbia (coleção O. F. Francke).

Colorido geral amarelo com zonas escuras sobre o corpo. Prossoma amarelo sem manchas. Mesossoma com zonas confluentes escuras sobre todos os tergitos. Metassoma com os segmentos I a III amarelos; segmento IV amarelo-avermelhado; segmento V e télson avermelhado-denegridos; aguilhão com base amarela, ponta avermelhada. Esternitos amarelados com zonas interiores pardas. Pentes, opérculo genital, esterno, ancas e processo maxilar amarelo-claros. Pernas amarelo-claras; pedipalpos: fêmur, tíbia e mão amarelo-claros; dedos avermelhado-escuros. Quelíceras com um retículo escuro pouco intenso; margem anterior e dedos denegridos; dentes avermelhados com manchas denegridas.

*Morfologia*. Prossoma ligeiramente estreitado na parte anterior, borda frontal com uma leve concavidade mediana. Cômoro ocular anterior em relação ao centro da placa prossomial; olhos medianos separados por mais que um diâmetro ocular. Três pares de olhos laterais. Cristas oculares medianas formando um sulco interocular pouco profundo; cristas oculares laterais e cristas posteriores, vestigiais. Granulação da placa prossomial ligeira, os grânulos situados principalmente na zona ântero-mediana. Granulação dos tergitos semelhante à do prossoma. Crista axial presente sobre todos os tergitos. Metassoma: segmentos I e II com dez cristas; III e IV com oito; segmento V com cinco cristas; cristas intermediárias do segundo segmento descontínuas na região anterior; tegumento entre as cristas com grânulos esparsos e finos. Região dorsal dos segmentos, escavada; cristas dorsais, sobretudo as dos segmentos II a IV, com diversos grânulos espiniformes, em forma de serrilha. Télson com uma crista ventral e grânulos esparsos sobre as faces laterais e ventral; espinho ventral do aguilhão bem desenvolvido, agudo, com dois grânulos dorsais. Pentes com 20-20 dentes. Pedipalpos: fêmur com cinco cristas; tíbia com sete; crista interna da tíbia com grânulos espiniformes basais bem desenvolvidos. Pinça com cris-

tas vestigiais; gume do dedo móvel com um lobo basal conspícuo; 16-16 séries de grânulos; dedo fixo com 13-13 séries de grânulos. Queliceras com a dentição característica dos Buthidae (Vachon[22]): dedo fixo com um dente basal e dedo móvel com dois. Tricobotriotaxia do tipo A-alfa (Vachon[23,24]).

*Fêmea-tipo* — Diferenças em relação com o macho.

Colorido geral amarelo, com esboço de manchas sobre as pernas e pedipalpos. Cristas e granulação do tegumento mais acentuadas. Pinças mais finas que as do macho; dedo móvel com lobo basal reduzido; dedo fixo com 14-13 séries de grânulos. Pentes com a lâmina intermediária basilar fortemente dilatada.

Variações encontradas em outros exemplares estudados:

Em duas fêmeas de Santa Marta: pentes com 21-20 dentes; dedo móvel com 16-16 séries de grânulos e dedo fixo com 13-13 séries de grânulos.

Material estudado

*Colômbia: Santa Marta:* BMNH. 1903.7.6.25., 1 fêmea-tipo, M.S. Name. *San Pedro* (S.N. de Santa Marta), 3800 feets: OF-1 macho, J.A. Kochalka coll., 3/IV/1975. *San Pedro-Carmelo* (S.N. de Santa Marta), 4100 feets: OF-1 fêmea, J.A. Kochalka coll., 7/II/1974. *V. Leonor,* Serr. Nueva Granada (S.N. de Santa Marta), 1311 m: OF-1 fêmea, J.A. Kochalka coll., 12/IV/1975. Sigla: OF — coleção O.F. Francke.

Tabela 1 — Medidas (mm) dos tipos de *Tityus melanostictus* e *Tityus engelkei.*

| | *T.melanostictus* tipo-macho | *T.engelkei* tipo-fêmea |
|---|---|---|
| Prossoma, comprimento | 4,3 | 6,6 |
| Prossoma, largura anterior | 2,5 | 4,0 |
| Prossoma, largura posterior | 5,1 | 7,4 |
| Segmento metassômico I, comprimento | 3,4 | 4,4 |
| Segmento metassômico I, largura | 2,7 | 3,6 |
| Segmento metassômico II, comprimento | 4,1 | 5,3 |
| Segmento metassômico II, largura | 2,8 | 3,6 |
| Segmento metassômico III, comprimento | 4,4 | 5,7 |
| Segmento metassômico III, largura | 2,9 | 3,7 |
| Segmento metassômico IV, comprimento | 5,0 | 6,5 |
| Segmento metassômico IV, largura | 3,0 | 3,8 |
| Segmento metassômico V, comprimento | 5,0 | 7,0 |
| Segmento metassômico V, largura | 2,9 | 3,8 |
| Télson, comprimento | 4,4 | 6,5 |
| Vesícula, comprimento | 2,8 | 4,2 |
| Vesícula, largura | 2,0 | 2,6 |
| Vesícula, altura | 1,8 | 2,5 |
| Aguilhão, comprimento | 2,1 | 3,0 |
| Fêmur, comprimento | 4,3 | 6,3 |
| Fêmur, largura | 1,3 | 1,9 |
| Tíbia, comprimento | 4,8 | 6,9 |
| Tíbia, largura | 1,9 | 2,8 |
| Pinça, comprimento | 8,8 | 12,4 |
| Pinça, largura | 2,6 | 2,6 |
| Dedo móvel, comprimento | 5,8 | 8,7 |
| Dedo fixo, comprimento | 4,9 | 7,6 |

*Tityus charalaensis* Mello-Leitão, 1940.

Espécie descrita a partir de uma fêmea coletada em Charala, Colômbia.





LOURENÇO, W.R. & EICKSTEDT, V.R.D. von. Contribuição ao conhecimento taxonômico dos escorpiões associados ao grupo **Tityus melanostictus** Pocock, 1893 (Scorpiones, Buthidae). **Mem. Inst. Butantan**, 49(3):87-95, 1987.

O tipo, depositado no Museo de Ciencias Naturales "La Salle", foi destruído e nenhum outro exemplar foi, até o momento, examinado pelos autores.

A descrição de Mello-Leitão é curta e não apresenta nenhuma ilustração, o que dificulta a identificação da espécie. Os dados gerais da descrição original aproximam esta espécie de *T. engelkei*, que é a espécie geograficamente mais próxima. No entanto, duas diferenças importantes existem: o número de dentes, 14 em *charalaensis* e 20 a 21 em *engelkei* e o número de séries de grânulos do dedo móvel, 12 em *charalaensis* e 16 em *engelkei*.

Partindo do princípio de que os dados mencionados por Mello-Leitão estão corretos, essas duas espécies são distintas. Por outro lado, não nos foi possível associar *T. charalaensis* a nenhuma outra espécie conhecida de *Tityus*.

*Tityus strandi* Werner, 1939 e *Tityus gasci* Lourenço, 1981.

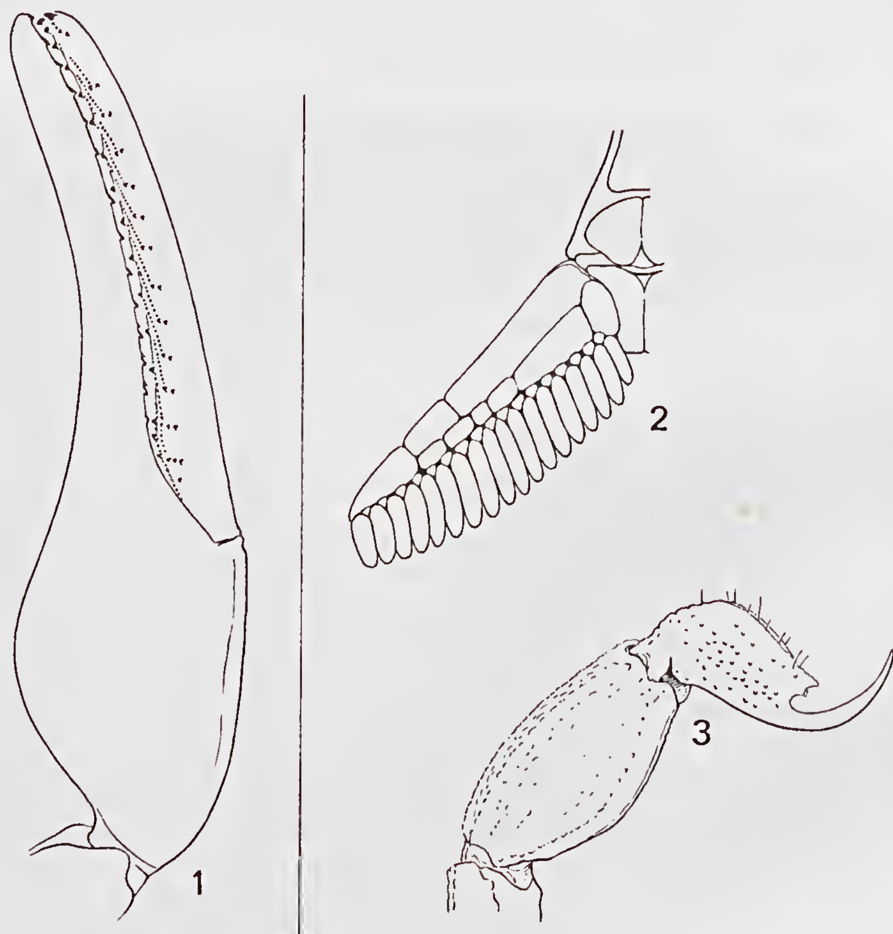
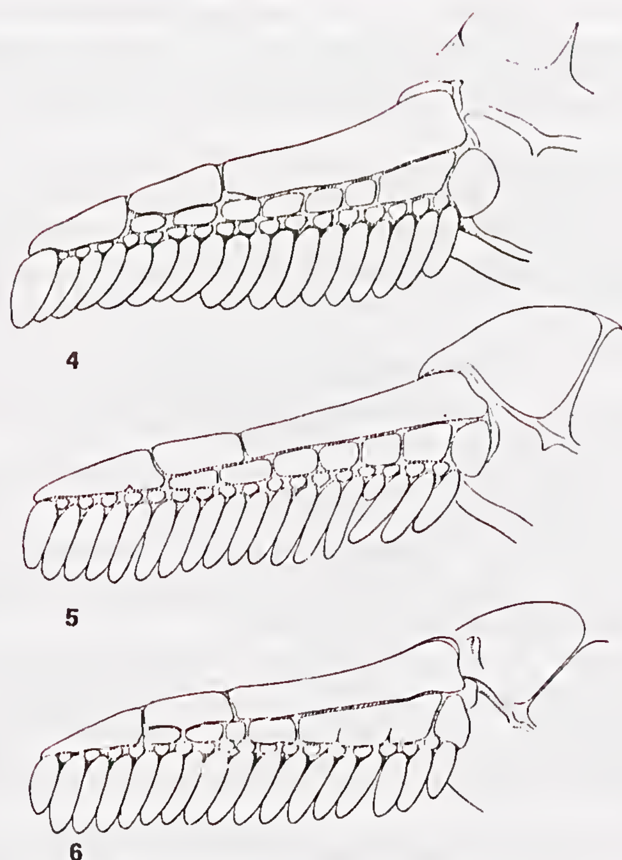



FIGURA 1 a 3 — *Tityus strandi* (macho) de Tucuruí (Pará). 1. Pinça direita. 2. Pente direito. 3. Quinto segmento metassomático e télson, vista lateral.




FIGURAS 4 a 6 — Pente direito (fêmea). 4. *Tityus strandi* (12 km de Manaus). 5. *Tityus strandi* (Tucuruí). 6. *Tityus gasci* (Panguana, Peru). Observar comparativamente a forma da lâmina intermédia basilar.

*Tityus strandi* foi descrita por Werner[25] a partir de duas fêmeas, uma das quais imatura, coletadas em Sacambu, Amazonas, Brasil. Lourenço[4] complementou a descrição da espécie e descreveu o macho pela primeira vez, a partir de um exemplar coletado no Lago Amana, Paraná do Urini, Amazonas. Nesse mesmo trabalho, Lourenço mencionou que os dois exemplares-tipo não correspondem à mesma espécie e escolheu a fêmea adulta como tipo de *T. strandi*. O reexame dos dois exemplares estudados por Werner, feito nesta oportunidade, permite afirmar que o exemplar menor corresponde a um imaturo de *Tityus metuendus* Pocock, 1897, espécie comum nesta região da Amazônia (Lourenço[7]).

*Tityus gasci* foi descrita da Guiana Francesa, baseada em macho. O estudo posterior de diversos exemplares da Amazônia permitiu constatar que esta espécie apresenta um caráter polimórfico e uma ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde a Guiana Francesa até o Peru (Lourenço[10]). Da mesma forma, o estudo atual de diversos exemplares de *T. strandi* da região de Tucuruí (Pará) permite concluir que esta espécie é também polimórfica, apresentando diferenças principalmente na pigmentação, sendo os escorpiões de Tucuruí mais escuros que os do Amazonas. As ilustrações (Figs. 4 e 5) mostram igualmente algumas diferenças na morfologia dos pentes dos exemplares de Tucuruí, quando comparados aos do Amazonas.

*Agradecimentos:* Agradecemos a P.D. Hillyard (BMNH) o empréstimo dos tipos de *T. engelkei* e *T. melanostictus,* a O.F. Francke o empréstimo de exemplares de *T. engelkei,* a D.J. Gonzalez pelas informações sobre os tipos de *T. charalaensis* e a J. Rebière a realização dos desenhos.

ABSTRACT: A systematic analysis is proposed for *Tityus melanostictus* Pocock, 1893 and associated species: *Tityus engelkei* Pocock, 1902, *Tityus strandi* Werner, 1939, *Tityus charalaensis* Mello-Leitão, 1940 and *Tityus gasci* Lourenço, 1981. *T. melanostictus* and *T. engelkei* are redescribed; several considerations are made for the other three species.
KEYWORDS: Scorpion taxonomy; *Tityus melanostictus* group taxonomy.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARMAS, L.F. Escorpiones del Archipiélago Cubano. III. Género *Tityus* C.L. Koch, 1836 (Scorpiones: Buthidae). *Poeyana, 135:* 1-15, 1974.
2. LOURENÇO, W.R. Contribution à la connaissance systhématique des scorpions appartenant au "complexe" *Tityus trivittatus* Kraepelin, 1898 (Buthidae). *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris,* 4è sér., *2,* sect A n.° 3: 793-843, 1980.
3. LOURENÇO, W.R. Sur la systhématique des Scorpions appartenant au "complexe" *Tityus stigmurus* (Thorell, 1877) (Buthidae). *Rev. bras. Biol., 41*(2): 351-362, 1981.
4. LOURENÇO, W.R. Descrição do macho de *Tityus strandi* Werner, 1939 (Scorpiones, Buthidae). *Rev. bras. Biol., 41*(4): 797-801, 1981.
5. LOURENÇO, W.R. *Tityus gasci,* nouvelle espèce de Scorpion Buthidae de Guyane française. *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris,* 4è sér., *3* sect. A n.° 3: 841-845, 1981.
6. LOURENÇO, W.R. La véritable identité de *Tityus bahiensis* (Perty, 1834). Description de *Tityus eickstedtae* n. sp. (Scorpiones, Buthidae). *Rev. Arachnol., 4:* 93-105, 1982.
7. LOURENÇO, W.R. Contribution à la connaissance du Scorpion amazonien *Tityus metuendus* Pocock, 1897 (Buthidae). *Stud. neotrop. Fauna Envir., 18*(4): 185-193, 1983.
8. LOURENÇO, W.R. Analyse taxonomique des Scorpions du groupe *Tityus clathratus* Koch, 1845 (Scorpiones, Buthidae). *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris,* 4è sér., *6,* sect. A n.° 2:349-360, 1984.
9. LOURENÇO, W.R. Revisão crítica das espécies de *Tityus* do Estado do Pará (Scorpiones, Buthidae). *Bol. Mus. Paran. Emilio Goeldi, Zool., 1*(1): 5-18, 1984.
10. LOURENÇO, W.R. Essai d'interpretation de la distribution du genre *Opisthacanthus* (Arachnida, Scorpiones, Ischnuridae) dans les régions néotropicale et afrotropicale. Étude taxonomique, biogéographique, évolutive et écologique. *Thèse de Doctorat d'Etat, Université Paris VI,* 1985, 287p.
11. LOURENÇO, W.R. Diversité de la faune scorpionique de la région amazonienne; centres d'endemisme; nouvel appui à la theorie des refuges forestiers du Pleistocene. *Amazoniana, 9* (4), 1986.
12. LOURENÇO, W.R. & EICKSTEDT, V.R.D. (no prelo). Considerações em torno de *Tityus costatus* (Karsch, 1879), provável espécie polimórfica de escorpião da floresta atlântica do Brasil (Scorpiones, Buthidae). *Iheringia.*
13. LOURENÇO, W.R. & FRANCKE, O.F. The identities of *Tityus floridanus* and *Tityus tenuimanus* (Scorpiones, Buthidae). *Flor. Ent., 67*(3): 424-429, 1984.
14. LOURENÇO, W.R. & MAURY, E.A. Contribution à la connaissance systhématique des Scorpions appartenant au "complexe" *Tityus bolivianus* Kraepelin, 1895 (Scorpiones, Buthidae). *Rev. Arachnol., 6*(3): 107-126, 1985.
15. LOURENÇO, W.R. & MÉNDEZ, E. Inventário preliminar sobre la fauna de escorpiones de Panama, con algunas consideraciones taxonomicas y biogeograficas. *Rev. Biol. trop., 32*(1): 85-93, 1984.
16. MELLO-LEITÃO, C. Divisão e distribuição do gênero *Tityus* Koch. *Anais Acad. bras. Ciênc. 3*(3): 119-150, 1931.
17. MELLO-LEITÃO, C. Revisão do gênero *Tityus. Physis, 17*:57-76, 1939.
18. MELLO-LEITÃO, C. Um pedipalpo e dois escorpiões da Colômbia. *Pap. Avulsos Dep. Zool., São Paulo, 1:* 51-56, 1940.



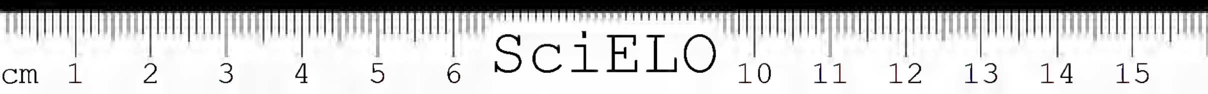


19. MELLO-LEITÃO, C. Escorpiões sul-americanos. *Arq. Mus. nac., 40:* 1-468, 1945.
20. POCOCK, R.I. Contributions to our knowledge of the Arthropod fauna of the West Indies. I. Scorpiones and Pedipalpi. *J. Linnean Soc., 24:* 373-409, 1893.
21. POCOCK, R.I. A contribution to the systematics of scorpions. *Ann. Mag. nat. Hist.,* ser. 7, *10:* 364-380, 1902.
22. VACHON, M. De l'utilité, en systhématique, d'une nomenclature des dents des chélicères chez les Scorpions. *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris,* 2è sér., *35*(2): 161-166, 1963.
23. VACHON, M. Ètude des caractères utilisés pour classer les familles et les genres de Scorpions (Arachnides). I. La trichobothriotaxie en Arachnologie. Sigles trichobothriaux et types de trichobothriotaxie chez les Scòrpions. *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris,* 3è sér., n.° 140 (Zool. 104): 857-958, 1973.
24. VACHON, M. Sur l'utilisation de la trichobothriotaxie du bras des pédipalpes des Scorpions (Arachnides) dans le classement des genres de la famille des Buthidae Simon. *C.R. Acad. Sci., Paris,* sér. D, *281:* 1597-1599, 1975.
25. WERNER, F. Neu-Eingange von Skorpionen in Zoologischen Museum in Hamburg. II. Teil. *Festschr. Prof. E. Strand, Riga, 5:* 351-360, 1939.

Recebido para publicação em 26/6/1987 e aceito em 15/9/1987.






cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

COLETÂNEA DE RESUMOS DE TRABALHOS PUBLICADOS PELOS PESQUISADORES DO INSTITUTO BUTANTAN
(1978-1986)



**Mem. Inst. Butantan**
49(3):97-141, 1987.

# COLETÂNEA DE RESUMOS DE TRABALHOS PUBLICADOS PELOS PESQUISADORES DO INSTITUTO BUTANTAN
(1978-1986)

1. ALBERTI, G.; AFZELIUS, B.A.; LUCAS, S.M.
Ultrastructure of spermatozoa and spermatogenesis in bird spiders (Theraphosidae, Mygalomorphae, Araneae).
*J. Submicrosc. Cytol.*, *18*(4): 739-53, 1986.

*Abstract*: The spermatozoa of bird spiders are coiled cells which comprise the following characteristics: 1) there is an acrosomal complex exhibiting a cone-shaped acrosomal vacuole and an acrosomal filament located in a helically arranged nuclear canal. 2) The nucleus is equipped with a postecentriolar nuclear elongation. 3) In the posterior region of the nucleus a double layer of electron lucid filaments characterizes the periphery of the nucleus. 4) The implantation fossa includes two centrioles in a nearly orthogonal position. 5) Both centrioles exhibit a reduced number of peripheral microtubules. 6) The 9 x 2 + 3 axoneme turns in the cell three to four times and is devoid of a flagellar membrane. 7) Mitochondria are present and occupy along with certain inclusions a wide area of cytoplasm. 8) The acrosomal vacuole is elevated above the cell surface. 9) Spermatozoa are combined in numerous capsules (coenospermia) which may contain more than one hundred individual spermatozoa. The spermatozoa of the three species investigated reveal only minor differences. Spermiogenesis of *Eurypelma californicum* is described. Comparisons are drawn to spermatozoa of related Arachnida. Spermatozoa of the mygalomorph spiders investigated occupy an intermediate position between those of Mesothelae and Araneomorphae. Coenospermia are considered the plesiomorphic type of combined spermatozoa in Araneae. in some mature spermatozoa rickettsia were detected.

*Resumo*: Os espermatozóides de aranhas caranguejeiras são células espiraladas que têm as seguintes características: 1. Há um amplo complexo acrossomático exibindo um vacúolo acrossomático em forma de cone e um filamento acrossomático localizado em um canal nucleolar helicoidalmente disposto. 2. O núcleo é equipado com um alongamento nucleolar pós-centriolar. 3. Na região posterior do núcleo uma camada dupla de filamentos elétron lúcidos caracteriza a periferia do núcleo. 4. A fossa de implantação inclui dois centríolos em posição quase ortogonal. 5. Ambos os centríolos têm um número reduzido de microtúbulos periféricos. 6. O axonema 9x2+3 dobra 3 a 4 vezes na célula e é destituído de uma membrana flagelar. 7. Mitocondrias estão presentes e ocupam com certas inclusões uma ampla área do citoplasma. 8. O vacúolo acrossomal é elevado acima da superfície da célula. 9. Os espermatozóides estão juntos em numerosas cápsulas que podem conter mais que uma centena de espermatozóides; das quatro espécies investigadas revelam apenas pequenas diferenças. É descrita a espermiogenese de *Eurypelma californicum*; são feitas comparações com espermatozóides de aracnídeos relacionados. Os espermatozóides das aranhas migalomorfas estudadas ocupam uma posição intermediária entre aqueles das MESOTHELAE das ARANEOMORPHAE. As cápsulas de espermas são consideradas do tipo plesiomorfo. Em alguns espermatozóides maduros foram detectadas Rickettsias.

2. ARMELIN, M.C.S.; STOCCO, R.C.; ARMELIN, H.A.
Control of rat $C_6$ glioma cell proliferation; uncoupling of the inhibitory effects of hydrocortisone hormone in suspension and monolayer cultures.
*J. Cell Biology*, *97*:455-8, 1983.

*Abstract*: A comparative study of the effects of the hormone hydrocortisone (Hy) on C6 glioma cells grown in monolayer and in suspension cultures was undertaken. Hy was found to reversibly render C6 cells anchorage and serum dependent for growth. In monolayer cultures, Hy was found

to inhibit cell-cycle traversing exclusively at G1 phase. In agarose suspension Hy was found to block colony development. Hy- resistant variants were selected and isolated in agarose suspension. Examination of these variants showed that cells selected for Hy- resistance in suspension can be Hy sensitive when anchored to a solid substrate. We concluded that resistance to Hy in suspension and in monolayer culture are two independent phenotypes.

*Resumo*: Desenvolvemos um estudo comparativo dos efeitos do hormônio hidrocortisona (Hy) em células de glioma de rato C6, crescidas em "monolayer" e em suspensão. Hy mostrou-se afetando a capacidade de fixação e de dependência de soro das células para crescimento. Em monocamadas ("monolayer cultures") Hy inibe o ciclo celular em G1. Em suspensão de agarose Hy bloqueia o desenvolvimento de colônias. Variantes resistentes a Hy foram selecionadas e isoladas em suspensão de agarose. A análise dessas variantes mostrou que as células selecionadas para resistência a Hy em suspensão podem ser sensitivas quando apoiadas em um substrato sólido. Concluímos que a resistência a Hy em suspensão e em cultura de monocamada constituem dois fenótipos diferentes.

3. ASSAKURA, M.T.; REICHL, A.P.; ASPERTI, M.C.A.; MANDELBAUM, F.R.
Isolation of the major proteolytic enzyme from the venom of the snake *Bothrops moojeni* (Caissaca).
Toxicon, *23*(4):691-706, 1985.

*Abstract*: *Moojeni* protease A was purified from the venom of *Bothrops moojeni* by chromatography on Sephadex G-100, DEAE Sephadex A-50 and rechromatography on Sephadex G-100. The enzyme shows one protein band in polyacrylamide gel electrophoresis at pH 8.5 or at pH 4.3. The pI of *moojeni* protease A was approximately 7.7. In immunoelectrophoresis it migrates to the cathode. The enzyme was homogeneous by polyacrylamide gel electrophoresis, immunoelectrophoresis and analyses in the ultracentrifuge. The $s_{20,w}$ and $D_{20,w}$ are 2.68 S and 10.34 x $10^{-7}$ $cm^2$/sec, respectively. The molecular weight calculated by $s/D$ ratio was 22,500 and a value of 22,800 was obtained by sedimentation equilibrium. In SDS-polyacrylamide gel electrophoresis the enzyme exhibits a single polypeptide chain of ~20,400 mol. wt under denaturating conditions. In water or low salt solution it undergoes denaturation and autolysis. The enzyme is also unstable at acidic pH and to heat treatment and precipitates in the presence of metal chelating compounds such as EDTA or 1,10 phenanthroline. Leucine, the $NH_2$-terminal amino acid of *moojeni* protease A is blocked after EDTA treatment. The proteolytic activity of this enzyme increases about 20% in the presence of $Ca^{2+}$; $Mg^{2+}$ has no effect and other divalent cations cause inhibition. The removal of $Ca^{2+}$ ions by oxalate causes about 20% inhibition; the activity was restored by addition of $Ca^{2+}$

*Resumo*: *Moojeni* protease A foi purificada do veneno de *Bothrops moojeni* por cromatografia em Sephadex G-100, DEAE-Sephadex A-50 e recromatografia em Sephadex G-100. A enzima apresentou uma banda de proteína por eletroforese em gel de poliacrilamida tanto em pH 8,5 como em pH 4,3. O pI da *moojeni* protease A é de aproximadamente 7,7. Por imunoeletroforese ela migra para o catodo. A enzima mostrou-se homogênea por eletroforese em gel de poliacrilamida, imunoeletroforese e análises de ultracentrifugação. Os valores para $s_{20,w}$ e $D_{20,w}$ são respectivamente 2,68 S e 10,34x$10^{-7}$ $cm^2$/seg e o peso molecular calculado da relação s/D foi de 22.500. Por equilíbrio de sedimentação foi obtido o valor de 22.800. Por eletroforese em SDS-gel de poliacrilamida, sob condições desnaturantes, a enzima mostrou ser composta de uma única cadeia polipeptídica de peso molecular aproximado de 20.400. Em água ou soluções de baixa concentração de sal a enzima sofre desnaturação e autólise. Ela é instável em pHs ácidos, tratamento pelo calor e precipita na presença de compostos metaloquelantes como EDTA e 1,10-fenantrolina. Leucina, o aminoácido $NH_2$-terminal da enzima *moojeni* protease A, encontra-se bloqueada após tratamento por EDTA. Na presença de $Ca^{2+}$, a atividade proteolítica aumenta cerca de 20%; $Mg^{2+}$ não tem efeito e outros cátios divalentes causam inibição. A remoção dos íons $Ca^{2+}$ por oxalato inibe a atividade em aproximadamente 20%; a atividade é restaurada pela adição de $Ca^{2+}$

4. ASSAKURA, M.T.; REICHL, A.P.; MANDELBAUM, F.R.
Comparison of immunological, biochemical and biophysical properties of three hemorrhagic factors isolated from the venom of Bothrops jararaca (Jararaca).
*Toxicon*, *24*(9):943-6, 1986.

*Abstract*: Compared to the crude venom of *Bothrops jararaca*, which needs 5000 ng to produce a hemorrhagic spot of 1 $cm^2$ on rabbit skin, the isolated hemorrhagic factors $HF_1$, $HF_2$ e $HF_3$ require 100, 20 and 15 ng of protein, respectively. Although these hemorrhagic factors possess different biochemical and biophysical properties, they are immunologically related proteins. The hemorrhagic, as well as the proteolytic, activities of theses factors are destroyed by EDTA, acidic pH of heat treatments.

*Resumo*: Comparados ao veneno bruto de *Bothrops jararaca*, que necessita de 5000 ng para produzir hemorragia de 1 $cm^2$ na derme de coelho, os fatores hemorrágicos $HF_1$, $HF_2$ e $HF_3$ requerem 100, 20 e 15 ng de proteína, respectivamente. Apesar destes fatores hemorrágicos possuírem propriedades bioquímicas e biofísicas distintas, são proteínas imunologicamente relacionadas. As atividades hemorrágica e proteolítica destes fatores são destruídas por EDTA, pH ácido e tratamento pelo calor.

5. BEÇAK, M.L. & BEÇAK, W.
Behaviour of the ZW sex bivalent in the snake *Bothrops jararaca*.
*Chromosoma*, *83*:289-93, 1981.

*Abstract*: The behavior of the ZW sex bivalent was investigated in female meiosis of the poisonous snake *Bothrops jararaca*. The Z is euchromatic and synapses end to end with the W. The W chromosome shows a heterochromatic segment distally in the short arm. Pairing occurs between the long arm of the W and the slightly longer arm of the mediocentric Z. A sex vesicle, similar to the one found in the XY placental mammals, does not occur in snakes. The Z and W chromosomes segregate reductioanally in the first meiotic division and equationally in the second.

*Resumo*: O comportamento do bivalente sexual ZW foi investigado na meiose feminina da serpente venenosa *Bothrops jararaca*. O Z é eucromático e pareia pelas extremidades com o W. O cromossomo W mostra um segmento heterocromático distal no braço curto. O pareamento ocorre entre o braço longo do W e o braço pouco mais longo do Z mediocêntrico. Uma vesícula sexual, similar áquela encontrada nos mamíferos placentários XY, não ocorre em serpentes. Os cromossomos Z e W segregam-se reducionalmente na primeira divisão meiótica e equacionalmente na segunda.

6. BEÇAK, M.L.; CARNEIRO, S.M.; FUKUDA, K.
Circles in spermatocyte chromatin loops; electron microscopy and AgAs-NORs studies.
*Experientia*, *34*:171-2, 1978

*Abstract*: We describe the production of circles in chromomeric loops during the pachytene stage of the spermatocytes. These circles are found attached to chromatin or already free in the nucleoplasm. Each circle measures an average of 3700 A in circunference. We suggest that such circles might indicate the presence of tandem repetitions.

*Resumo*: Descrevemos a produção de círculos em alças cromoméricas durante a fase paquitênica dos espermatócitos. Esses círculos são encontrados presos á cromatina ou já livres no nucleoplasma. Cada círculo mede uma média de 3.700 A de circunferência. Sugerimos que tais círculos podem indicar a presença de repetições "tandem".

7. BEÇAK, M.L.; FUKUDA-PIZZOCARO, K,; BATISTIC, R.F.; SCOTT, M.D.S.; LEON, N.
Atypical synapsis of sex chromosomes in rat primary spermatocytes: light and electro microscopy.
*Rev. bras. Genet.*, *8*(4): 689-95, 1985.

*Abstract*: Chromatin-free synaptonemal complexes were obtained from primary spermatocyte spreads of Rattus norvegicus, and observed by light and electron microscopy. The XY bivalent presented an extensive region of synapsis. Moreover, the XY pair was frequently found to be associated with autosomes carrying residual NORs. It is proposed that the atypical XY synapsis might reveal genetical homologies on sex chromosomes considered as already differentiated. The association of the X with the nucleolar chromosomes is also discussed.

Resumo: Complexos sinaptonêmicos destituídos de cromatina foram obtidos em espalhamentos de espermatócitos primários de Rattus norvegicus, por microscopia óptica e eletrônica. Observou-se que o bivalente XY apresenta uma região extensa de sinapse, além de associar-se freqüentemente com autossomos portadores de RONs. Propõe-se que a sinapse atípica do XY indica homologias genéticas em cromossomos sexuais tidos como diferenciados. Discute-se, também, a associação do X com os cromossomos nucleolares.

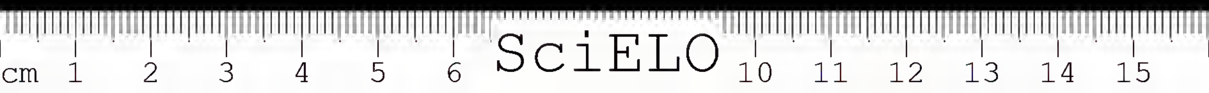
8. BEÇAK, M.L.; FUKUDA-PIZZOCARO, K.; SANTOS, R.C.S.
Aspects of active chromatin in chromosomes displaying loops/scaffold configuration: high-resolution autoradiography.
*Rev. bras. Genet.*, *8*(1):97-106, 1985.

*Abstract*: Prophase chromosomes presenting the loops/scaffold configuration were obtained in spreads of peripheral blood cells from normal and affected subjects. A distinct class of loops condensed in a chromatin body of variable diameter was observed. These loops are highly folded, have altered beads, present lateral fibrils, and they fragment forming rings. These fibrils incorporate 5-$^3$H uridine as demonstrated by high resolution autoradiography. The nucleosomal alterations were explained as a result of the low ionic strength medium used, with the rings being indicative of repetitive DNA sequences.

*Resumo*: Cromossomos profásicos apresentando a configuração "loops/scaffold" foram obtidos em espalhamentos de células do sangue periférico humano de indivíduos normais e afetados. Observou-se uma distinta classe de alças condensadas formando um corpo cromatínico de diâmetro variável. Essas alças são intensamente dobradas, têm nucleossomos alterados, apresentam fibrilas laterais e fragmentam-se formando anéis. Estas fibrilas incorporam 5-$^3$H uridina, como demonstrado por auto-radiografia de alta resolução. As alterações dos nucleossomos foram explicadas pela remoção de histonas sendo os anéis indicativos de seqüências repetitivas do DNA.

9. BEÇAK, M.L.; FUKUDA-PIZZOCARO, K.; SANTOS, R.C.S.; BRUNNER, O.
Circular chromatin complexes in human lymphocytes; high-resolution autoradiography.
*Rev. bras. Genet.*, *8*(2):385-94, 1985.





Abstract: Transcriptionally active chromatin fibers were observed in chromosomes presenting the loops/scaffold configuration. The active fibers showed altered nucleosomes and presented multiforked aspects which led to the formation of ring complexes. The ribonucleoprotein transcripts (RNP) appeared as networks of 0.1 μm or multiples tandemly disposed along the fiber. It is suggested that the ring complexes belong to the human genome. The possibility that these circular structures come from a prokaryote is also considered.

Resumo: Fibras de cromatina ativas em transcrição foram observadas em cromossomos humanos. Esses cromossomos mostram configurações do tipo "loops/scaffold". As fibras ativas têm nucleossomos alterados e apresentam aspectos "multiforked" os quais levam à formação de anéis. Os transcritos de Ribonucleoproteína (RNP) aparecem como emaranhados de 0,1 μm ou múltiplos dispostos em série ao longo de fibra. Sugere-se que os complexes circulares de cromatina pertencem ao genoma humano. A possibilidade de que os anéis provêm de procariotos é também discutida.

10. BEÇAK, M.L.; FUKUDA-PIZZOCARO, K.; SANTOS, R.C.S.; SCOTT, M.D.S.; LEON, N.
Extrachromosomal circular DNA — containing structures in lymphocytes of normal and X- fragile individuals: electron microscopy.
*Rev. bras. Genet.*, *9*(4):715-25, 1986.

*Abstracts*: CG-rich DNA sequences with RNA transcription activity were evidenced *in vivo* in lymphocyte spreads from normal and fragile-X individuals. This DNA class occurs in two states within the nuclei, i.e. in the form of extrachromosomal circles or in association with multiforked chromatin loops. The circles were assumed to be formed by the annealing of excised segments that are neosynthesized in the complex chromatin loops. These configurations led us to discuss the eventual occurrence of gene amplification or of transposon-like elements in human somatic cells.

*Resumo*: Por microscopia eletrônica, evidenciou-se seqüências de ADN ricas em CG, ativas na transcrição de ARN em "spreads" de linfócitos *in-vivo*, de indivíduos normais e com fra-X. Esta classe de DNA ocorre em dois estados dentro dos núcleos. Apresenta-se como círculos xtracromossômicos ou em associação com alças cromatínicas "multiforked". Assumiu-se que os círculos são formados pelo anelamento de segmentos excisos, neosintetizados nas alças cromatínicas complexas. As configurações encontradas levaram à discussão sobre a ocorrência eventual de amplificação gênica ou de elementos similares a transposons em células humanas somáticas.

11. BEÇAK, M.L.; SCOTT, M.D.S.; FUKUDA-PIZZOCARO, K.; SANTOS, R.C.S.; LEON, N.
Active genes visualized in pachytene and lymphocyte nuclei from normal and affected individuals: AgAs-staining, light and electron microscopy and high-resolution autoradiography.
*Rev. bras. Genet.*, *8*(3):555-68, 1985.

*Abstract*: Clusters of transcribed nucleolar genes were evidenced by light and electron microscopy as granules of 0.1 to 1.0 μm, stained with silver and alcoholic phosphotungstic acid (PTA) dyes, in primary spermatocytes and lymphocytes of man. The granules found in pachytene nuclei are clustered in a distinct nuclear region, containing associated autosome bivalents and the XY sex pair. A silver-stained granule was found closely related to the XY sex bivalent. In the present paper, the specific nuclear region is denominated "Chromatin body" (ch b). The granules, found in the lymphocyte nucleoli, correspond to clusters of transcriptionally active sites having coiled ribonucleoprotein fibrils (RNP) which incorporate [$^3$H]-uridine in pulse labelling experiments. The active genes were found in the fibrillar components of the nucleolus, their transcription level, as estimated by the amount of stained-granules, varying in normal and affected individuals and during folic acid treatment.

*Resumo*: Aglomerados de genes nucleolares transcritos foram evidenciados por microscopia óptica e eletrônica como grânulos de 0.1 a 1.0μm, corados com prata e ácido fosfotungstico alcoólico (PTA), em espermatócitos e linfócitos humanos. Os grânulos, encontrados nos núcleos paquitênicos acham-se aglomerados numa região nuclear distinta, contendo bivalentes autossômicos associados e o par sexual XY. Um grânulo corado pela prata foi encontrado estreitamente relacionado com o bivalente sexual XY. Esta específica região nuclear foi designada "corpo cromatínico" (c cr), neste trabalho. Os grânulos encontrados nos nucléolos de linfócitos, correspondem a aglomerados de sítios ativos em transcrição, tendo fibrilas enroladas de ribonucleoproteínas (RNP), as quais incorporam uridina [$^3$H], em experimentos de marcação de pulso. Os genes ativos foram encontrados nos componentes fibrilares do nucléolo e seus níveis de transcrição, estimados pela quantidade de grânulos corados, variaram em indivíduos normais e afetados e durante o tratamento com ácido fólico.

12. BEÇAK, W.
Evolution and differentiation of sex chromosomes in lower vertebrates.
*Differentiation*, *23*(suppl.):S3-S12, 1983.

*Abstract*: A cytogenetic throught revision of the lower vertebrates including fish, amphibians and reptiles is presented. Special emphasis was given to mechanisms of evolution and sex chromosomes differentiation. Male and female heterogamety, inativation of sex chromosomes and dosage compensation are discussed. Hermaphroditism and the studies of H-Y (H-W) antigen in lower vertebrates are also reviewed.

*Resumo*: Neste trabalho é feita uma revisão completa da citogenética de vertebrados inferiores, compreendendo peixes, anfíbios e répteis, focalizando especificamente os mecanismos de evolução e a diferenciação dos cromossomos sexuais. São discutidos os casos de heterogametia masculina e heterogametia feminina, assim como inativação de genes ligados aos cromossomos sexuais e compensação de dose. São também discutidos o fenômeno de hermafroditismo e a existência e ação do antígeno H-Y (H-W) nos vertebrados inferiores.

13. BELLUOMINI, H.E.; ARAUJO, P.; ROSENFELD, G.; LEINZ, F.F.; BIRGEL, E.H.
Symptomatologie der experimentellen crotalustoxin-vergiftung bei rindern, die einer spezifischen serumtherapie unterworfen wurden.
*Dtsch. tierarztl. Wschr.*, *89*: 444-8, 1982.

Zusammenfassung. Um die Symptomatologie von Crotalus-Vergiftungen bei Rindern abzuklaren, wurde 92 Zebukreuzungstieren mit einem Gewicht von 108 bis 610 kg eine Mischung von Crotalusgift (Crotalus durissus terrificus und Crotalus durissus collilineatus — C.d.t. und C.d.c.) in einer Dosis von 0,05 mg/kg Korpergewicht intramuskular appliziert. 49 Rindern wurde 2 bis 6 Studen nach der Schlangengiftverabreichung sperzifisches Antiserum intramuskular verabfolgt. Die Dosis ist bei anderen Spezies ausreichend, um ein-bis viermal das injizierte Gift zu neutralisieren. Den restlichen 43 Rindern wurde unter gleichen Bedingungen das Antiserum intravenos injiziert. Die erhaltenen Ergebnisse weichen von der Symptomatologie ab, die in Abhandlungen über Unfalle beim Menschen mit den erwahnten Schlangenarten und der Gattung Bothorops zu finden ist. Die Symptome unterscheiden sich auch von den Symptomen beim Menschen, die nach Unfallen mit Crotalus atrox, einer nordamerikanischen Schlangenart, auftreten. Es konne folgende Feststellungen gemacht werden:
1. Rinder sind auBerst emmpfindlich gegenüber der neurotoxischen Fraktion des Crotalusgiftes und weniger empfindlich gegenüber der hamolytischen Fraktion, wobei der Verlauf der Vergiftung, selbst bei mit einem Antiserum behandelten Tieren, rasch und ohne charakteristische Symptome vor sich geht.
2. Die Letalitat von Rindern, die bis zu 6 Stunden nach der Giftverabreichnung mit dem Antiserum behandelt wurden, ist hoch: 59,2% trotz intramuskularer Behandlung und 32,3% trotz intravenoser Applikation. Der Tod trat haufig wahrend der ersten 24 Studen ein (bei 72,4% trotz intramuskularer Behandlung und bei 53,8% trotz intravenoser Serumverabreichung).
3. Die am haufigsten auftretenden Symptome in beiden Gruppen waren Stand-und Bewegungsschwierigkeiten (bei 42,4% trotz intramuskularer und bei 69,2% trotz intravenoser Applikation des Antiserums); Brust-und/oder Seitenlage (bei 86,2% der Tiere trotz intramuskularer und bei 92,3% trotz intravenoser Applikation des Antiserums); herabgesetzter Augenlidreflex ohne Ptosis durch schlaffe Lahmung; Auftreten von photomotorischem Pupillenreflex; motorische Paralyse des Augapfels, die zwischen 6 und 72 Stunden eintritt (bei 17,2% der Tiere trotz intramuskularer und bei 15,4% trotz intravenoser Applikation des Antiserums); Abfallen des Hamoglobingehaltes und/oder makroskopische Veranderung des Harns und der Miktion. Weiterhin traten Begleitsymptome, wie Apathie, Sialorrhoe, Anorexie, Durst, Pansenparese und akute Tympanie, auf.
Im allgemeinen fehlen pathognomonische Symptome; deshalb wird die Diagnose gerade durch das Fehlen der spezifischen Zeichen erschwert.

Resumo: Para esclarecer a sintomatologia de envenenamentos crotálicos em bovinos, foi aplicada via intramuscular a 92 mestiços Zebu, com um peso de 108 a 610 kg, uma mistura de veneno crotálico (*Crotalus durissus terrificus* e *Crotalus terrificus collilineatus* — C.d.t. e C.d.c.) numa dose de 0,05 mg/kg peso de corpo. A 49 bovinos, 2-6 hs depois da aplicação do veneno de serpentes, foi aplicado via intramuscular, soro específico em dose suficiente para neutralizar o veneno injetado de uma a 4 vezes. Os restantes 43 bovinos receberam o soro via intravenosa sob as mesmas condições. Os resultados obtidos são diferentes da sintomatologia encontrada nas descrições de acidentes humanos com as espécies mencionadas e da espécie *Bothrops*. Os sintomas diferem também dos sintomas no homem, que aparecem depois de acidentes com *Crotalus atrox*, uma espécie norte-americana. As seguintes observações podem ser feitas.

1 — Bovinos são muito sensíveis à fração neurotóxica do veneno crotálico e pouco sensíveis à fração hemolítica, e o envenenamento, mesmo em animais tratados com soro específico, ocorre rapidamente e sem sintomas característicos.

2 — A letalidade de bovinos, tratados com o soro específico até 6 h depois da aplicação do veneno, é alta: 59,2% apesar de tratamento intramuscular e 32,3% apesar da aplicação intravenosa. A morte freqüentemente ocorreu durante as primeiras 24 h (em 72,4% apesar de tratamento intramuscular e em 53,8% apesar da aplicação intravenosa do soro).

3 — Os sintomas mais freqüentes em ambos os grupos eram dificuldade de se manter em pé e dificuldade de movimentos (em 42,4% apesar da aplicação do soro, via intramuscular) e em 69,2% apesar da aplicação intravenosa do soro; decúbito esterno abdominal e/ou lateral (em 86,2% dos animais apesar da aplicação intramuscular e em 92,3% apesar da aplicação intravenosa do soro); reflexo discreto das pálpebras sem ptose; aparecimento de reflexo pupilar fotomotor; paralise motora do glóbulo ocular, que ocorre entre 6 e 72 h (em 17,2% dos animais apesar de aplicação intramuscular e em 15,4% apesar da aplicação intravenosa do soro); queda do teor de hemoglobina e/ou modificação macroscópica da urina e da micção. Além disso apareceram sintomas como apatia, sialorréia, anorexia, sede, parese do rúmen e timpanismo agudo.
Geralmente faltam sintomas patognomônicos; por isso a diagnose é dificultada pela falta dos sinais específicos.

14. BELLUOMINI, H.E.; ARAUJO, P.; ROSENFELD, G.; PENHA, A.M.
Beitrag zur serumtherapie bei experimenteller vergiftung von rindern mit dem gift der klapperschlange.
*Dtsch. tierarztl. Wschr., 90:* 93-5. 1983.

Zusammenfassung. Insgesamt 96 Rinder einer Mischrasse erhielten experimentell die Letaldosis von 0,05 mg/kg KGW Gift von Klapperschlangen (zwei Crotalus-durissus-Subspecies) intramuskular verabreicht, danach wird das Tier in verschiedenen Zeitabstanden mit einem Antiserum behandelt, welches eine unterschiedliche Neutralisationskapazitat (1:1, 2:1 und 4:1) zur Giftdosis hatte.
Mit einer Neutralisationskapazitat des Antiserums von 2:1 zur Giftdosis konnten bei intramuskularer Serumtherapie etwa 50% der vergifteten Rinder gerettet werden, wenn die Behandlung 6 Studen spater begonnen wurde. Ertfolgte eine intravenose Applikation des Antiserums, dann konnten noch 62,5% der Tiere überleben, wenn die Serumdosierungen von 2:1 und 4:1 gewahlt wurden und die Therapie 6 Studen nach der Intoxikation begann.
Die Schwierigkeiten der Umsetzung dieser auf experimenteller Basis erhaltenen Ergebnisse in die Praxis entstehen dadurch, daβ bei Rindern auf der Weide nach Biβverletzung durch Klapperschlangen die Vergiftungssymptome erst 5 Stunden danach sichtbar werden. Dadurch verschlechtern sich die Uberlebenschancen der Kühe zwangslaufig, auch wenn man von vornherein der intravenosen Applikationsweise des Antiserums den Vorzug gibt.

Resumo: Noventa e seis bovinos (mestiços Zebu), ao todo, receberam via intramuscular, experimentalmente, a dose letal de 0,05 mg/kg peso de corpo, o veneno de cascavéis (duas subespécies de *Crotalus durissus*), seguido por tratamento, em diversos intervalos, com soro, tendo uma capacidade de neutralização diferenciada da dose de veneno (1:1, 2:1, 4:1).
Com uma capacidade de neutralização do soro de 2:1 para a dose de veneno, com a soroterapia intramuscular, puderam ser salvos ± 50% dos bovinos envenenados, quando o tratamento foi iniciado 6 horas depois. Nos casos de aplicação intravenosa do soro, 62,5% dos animais puderam sobreviver, na dosagem do soro de 2:1 e 4:1 e a terapia começando até 6 h depois da intoxicação.
As dificuldades de transpor estes resultados obtidos em base experimental, para a prática, ocorrem pelo fato, que em bovinos no pasto, os sintomas de envenenamento por cascavel aparecem somente 5 h depois da picada. Por este fato, as chances de sobreviver dos bovinos são menores, mesmo se, de antemão, a aplicação intravenosa for preferida.

15. BIRGEL, E. H.; BELLUOMINI, H.E.; LEINZ, F.F.
Auswertung der urinbefunde bei rindern mit experimenteller *Crotalus-vergiftung*.
*Zbl. Vet. Med. A., 30:* 283-9, 1983.

Zusammenfassung. Bei 15 Rindern (Zebukreuzungstiere) wurden die durch Schlangengift (südamerikanische Klapperschlange) hervorgerufenen Harnveranderungen untersucht. Den Versuchstieren wurde 0,05 mg/kg KGW einer Mischung von Crotalus durissus terrificus-und Crotalus durissus collilineatus-Gift i.m. injiziert. Bis 6 Stunden nach der Verabreichung der Gifte wurde 10 dieser Tiere ein spezifisches Serum injiziert.
Die verwendeten Schlangengifte verursachen eine zunehmende Schadigung des Nephrons mit verminderter Resorptionsleistung von Substanzen im Bereich der proximalen Tubuli contorti, gefolgt von Proteinurie, Glukosurie und verringerter Harnkonzentration. In 60% der Falle wurde Mikrohamaturie, Nierenstauung und eine groβere Durchlassigkeit der Nierenglomeruli beobachtet. Diese Befunde wiesen auf eine Glomerulonephritis hin.
Trotz Verabreichung todlicher Giftmengen konnte bei den Versuchsrindern kein intensiver hamolytischer Effekt nachgewiesen werden. Durch Harnuntersuchungen ist es leicht moglich, beim Rind Vergiftungen mit Klapperschlangengift von solchen mit Giften von Bothrops sp. (Hamaturie und intensive Blutungen) und Vergiftungen durch toxische Pflanzen, deren aktive Bestandteile hamolytisch sind (deutliche Hamoglobinurie) differentialdiagnostisch abzuklaren.

Resumo: Em 15 bovinos (mestiço Zebu) foram examinadas as modificações da urina causadas por veneno de serpente (cascavel sul-americana). Aos animais-teste foi injetado via intramuscular 0,05 mg/kg peso do corpo de uma mistura do veneno de *Crotalus durissus terrificus* e *Crotalus durissus collilineatus*. Até 6 h depois da aplicação dos venenos, 10 destes animais receberam injeção de soro específico.
Os venenos de serpente aplicados causaram um dano crescente do nefron com capacidade de reabsorção reduzida de substâncias ao nível dos Tubuli contorti proximais, seguido por proteinúria, glicosúria e concentração da urina reduzida. Em 60% dos casos foram observados microhematúria, bloqueio dos rins e permeabilidade maior dos glomerulos renais.
Estes achados indicaram uma glomerulonefrite.
Apesar da aplicação de quantidades mortais do veneno, nos bovinos sob teste, não foi comprovado efeito hemolítico intenso. Por exames da urina é bem possível diferenciar nos bovinos envenenamentos com veneno crotálico daqueles com veneno de *Bothrops* sp. (hematúria e sangramentos intensivos) e envenenamento por plantas tóxicas, cujos componentes ativos são hemolíticos (nítida hemoglobinúria).

16. BRUNNER JR., A.; MARTINS, I.S.S.; MITSUTANI, C.Y.; TOLEDO BILOTTA, J.A.; ARAUJO PERES, C.
A relative morphological evaluation of hemoglobin biosynthesis in peripheral blood reticulocytes of normal and anemic rabbits.
*Comp. Biochem. Physiol., 74A*(3): 755-60, 1983.

*Abstract* – Peripheral blood reticulocytes of normal and bled rabbits and of rabbits with phenylhydrazine-induced anemia, were morphologically analysed, through silver sections, for a relative evaluation of hemoglobin (Hb) biosynthesis activity.
Reticulocytes of maturation degrees within the range of 35-60 polysomes/$\mu m^2$, were compared as to their mean numbers of hemosomes (sites of heme integration into the globin chains), and mitochondria (indirect precursors for hemosome formation).
The results on the mean numbers of hemosomes per reticulocyte section, correlated to several physiological data under those three conditions, suggested a close relationship between Hb biosynthesis activity and hemosome frequency.
In bled rabbits, reticulocytes showing a low mean number of hemosomes (XhB/section = 0.32), as compared to reticulocytes of normal rabbits (XhN/section = 0.70) and to reticulocytes of rabbits with hemolytic anemia (XhH/section = 2.10), gave rise to a new erythrocyte population characterized by a low Hb content.
Hb concentration differences were verified by confronting hematological data before bleeding with those obtained after the regression of anemia.

Resumo: Reticulócitos do sangue periférico de coelhos normais, de coelhos sangrados e de coelhos com anemia induzida pela fenilhidrazina, foram analisados morfologicamente, através de cortes prateados, para uma avaliação relativa da atividade de biossíntese de hemoglobina (Hb).
Reticulócitos no grau de maturação compreendido entre 35 a 60 polissomos por $\mu m^2$, foram comparados quanto ao número médio de hemossomos (entidades onde ocorre a integração do grupo hemo às cadeias globínicas) e mitocôndrias (precursoras indiretas da formação de hemossomos).
Os resultados sobre os números médios de hemossomos por secção de reticulócito, correlacionados a vários dados fisiológicos segundo as três condições (normal, anemia por sangrias sucessivas e anemia hemolítica), sugeriram uma estreita relação entre a atividade de biossíntese de Hb e a freqüência de hemossomos.
Nos coelhos sangrados, reticulócitos contendo baixo número médio de hemossomos (XhB/secção = 0,32) quando comparados com reticulócitos de coelhos normais (XhN/secção = 0,70) e com reticulócitos de coelhos com anemia hemolítica (XhH/secção = 2,10), dão origem a uma nova população de eritrócitos caracterizados por uma baixa concentração de Hb. As diferenças entre as concentrações de Hb foram verificadas, confrontando dados hematológicos obtidos antes das sangrias com os obtidos após a regressão da anemia.

17. BRUNNER JR., A.; MITSUTANI, C.Y.; TOLEDO BILOTTA, J.A.; ARAÚJO PERES, C.
Cytomorphology and behavior of late bone marrow and peripheral blood erythroid cells in experimental hemolytic anemia.
*Cytologia*, *45*: 411-21, 1980.

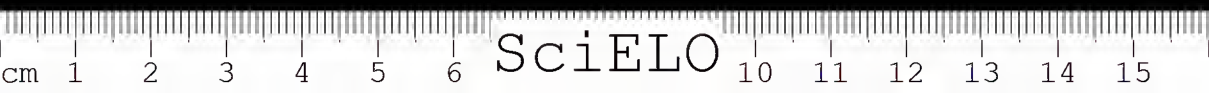
*Abstract*. Hemoglobin biosynthesis in rabbits with phenylhydrazine-induced anemia has been morphologically studied, comparing late bone marrow with peripheral blood erythroid cells of the same maturing degree. They were analysed through thin sections, as to their organelle type content and behavior regarding iron incorporation. Hemosomes are organelles taken as sites of final hemoglobin biosynthesis, and the ratio between their mean number in blood reticulocyte sections and that in late marrow erythroid cell sections reach about 10:1. Late marrow erythroid cells contain practically twice the mean number of mitochondria in relation to this mean number in blood reticulocytes. Mitochondria are considered as potential acting entities for hemoglobin biosynthesis, since they participate in hemosome formation. Iron incorporation activity increases more than twice in peripheral blood reticulocytes, as compared to the mean in late marrow erythroid cells. These analytical results suggest that an enhancement of hemoglobin synthesis activity occurs when erythroid cells enter the peripheral blood.

Resumo: A biossíntese de hemoglobina em coelhos com anemia induzida pela fenilhidrazina foi morfologicamente estudada, comparando células eritróides da medula óssea com as do sangue periférico, no mesmo grau de maturação. Foram analisadas, através de cortes ultrafinos, quanto ao seu tipo de conteúdo organelar e comportamento referente à incorporação de material ferruginoso. Os hemossomos são organelos tidos como entidades onde ocorre a fase final da biossíntese de hemoglobina. A relação entre o seu número médio em secções de reticulócitos do sangue periférico e o número médio em secções das mesmas células na medula óssea atinge cerca de 10:1. As células eritróides da medula óssea contêm praticamente o dobro do número médio de mitocôndrias em relação a esse número médio nas células eritróides do sangue periférico. As mitocôndrias são consideradas entidades em potencial para a formacão de hemossomos. A atividade de incorporação de material ferruginoso aumenta, em média, além do dobro nos reticulócitos do sangue periférico, quando comparada com o número médio constatado nas células eritróides da medula óssea. Estes resultados analíticos sugerem que um aumento na atividade de biossíntese de hemoglobina ocorre quando as células eritróides passam da medula óssea para o sangue periférico.

18. BRUNNER JR., A.; RIZZO, E. de; MITSUTANI, C.Y.; MENDES, I.F.; RIBEIRO de BARROS, M.A.
The mitochondrial function in hemosome formation and hemoglobin biosynthesis.
*Comp. Biochem. Physiol.*, *73B* (4): 829-33, 1982.

*Abstract*. Rabbit-kidney epithelial cell cultures were induced to synthesize hemoglobin, by previously mixing cell suspensions with solutions containing reticulocyte free globin, hemoglobin and anemic rabbit blood plasma. As control, a solution without globin was used.





After a 24 hr culture growth period, hemoglobin was absent, as stated through electrophoresis, suggesting hemoglobin denaturation; mitochondria interacted with the incorporated material and particles resembling ferritin molecules were found within 48 hr.
Mitochondria modified remarkably giving rise to lamellated bodies which recomposed to form prohemosomes, presumably containing globin and newly synthesized heme; hemoglobin was still absent up to 72 hr.
After 96 hr hemosomes developed and hemoglobin, apparently constituted by reticulocyte globin, was detected.

Resumo: Células epiteliais de rim de coelho, em cultura, foram induzidas à síntese de hemoglobina, misturando previamente suspensões celulares com soluções contendo globina livre, de reticulócitos, hemoglobina e plasma anêmico de coelhos sangrados. Como controle, foi usada uma solução isenta de globina.
Após um período de crescimento de 24 h das culturas, a hemoglobina não foi constatada através de eletroforese, sugerindo a ocorrência de uma desnaturação; as mitocôndrias interagem com o material incorporado e partículas semelhantes às moléculas de ferritina foram encontradas após 48 h. As mitocôndrias se modificaram acentuadamente, dando origem a corpos lamelados que se recompuseram para a formação de prohemossomos, contendo, presumivelmente, globina e hemo; a hemoglobina não foi constatada até o periodo de crescimento de 72 h.
Após 96 h, a formação de hemossomos foi constatada e uma hemoglobina, aparentemente constituída de globina de reticulócitos, foi detectada.

19. BRUNNER JR.; A. TOLEDO BILOTTA, J.A.; SPADACCI MORENA, D.D.
Mitochondria, hemosomes and hemoglobin biosynthesis.
*Cell tissue Res.*, *223*:215-25, 1983.

*Abstract*: Erythroid cells of the liver and peripheral blood of rabbit embryos, as well of bone-marrow and peripheral blood of adult rabbits with phenylydrazine-induced hemolytic anemia, were analysed ultrastructurally to investigate the formation of hemosomes, organelles suggested to be sites of heme integration into the four globin polypeptides. After the incorporation of iron-containing material, free ferruginous inclusions appear. Mitochondria apparently give rise to lamellated bodies whose double lamellae expand for the captation of the ferruginous inclusions, a source of iron for heme synthesis, and globin polypeptidic chains already synthesized in the diffusely distributed polysomes. The expanding lamellae return, so that prehemosomal vesicles containing ferruginous material and globin are formed. Through invaginations of the inner membrane and a possible rotational movement of these vesicles the beginning of prohemosome formation takes place concomitant with the occurrence of heme synthesis. A structural rearrangement of prohemosomes occurs, and typical hemosomes containing hemoglobin molecules develop, whose content spreads throughout the cytoplasm by disruption of the organelle membranes.

*Resumo*. Células eritróides do fígado e sangue periférico de embriões de coelho, bem como da medula óssea e sangue periférico de coelhos adultos com anemia hemolítica induzida pela fenilhidrazina, foram analisados ultra-estruturalmente a fim de investigar a formação de hemossomos, organelos tidos como locais da integração do grupo hemo às quatro cadeias polipeptídicas de globina. Após a incorporação de material contendo ferro, surgem inclusões ferruginosas livres. As mitocôndrias aparentemente dão origem a corpos lamelados, cujas lamelas duplas se expandem para a captação das inclusões ferruginosas, fontes de ferro para a síntese de hemo, e das cadeias polipeptídicas de globina já sintetizadas nos polissomos difusamente distribuídos. As lamelas expandidas retornam, formando vesículas pré-hemossômicas que contêm material ferruginoso e globina. Através de invaginações da membrana interna e um possível movimento de rotação dessas vesículas, tem início a formação de prohemossomos, e, concomitantemente, a síntese de hemo. Ocorre um rearranjo estrutural dos prohemossomos e hemossomos típicos, contendo moléculas de hemoglobina, desenvolvem-se. Seu conteúdo se difunde para o citoplasma pela ruptura das membranas organelares.

20. CAMARGO, M.E.; SILVEIRA, L.; FURUTA, J.A.; OLIVEIRA, E.P.T.; GERMEK, O.A.
Immunoenzymatic assay of and-diphtreric toxin antibodies in human serum.
*J. clin. Microb.*, *20*(4):772-4, 1984.

*Abstract*: An enzyme-linked immunosorbent assay was developed for measuring immunoglobulin G anti-diphtheric toxin antibodies in human serum. The assay was done in plastic plates coated with purified diphtheric toxoid. Since a straight-line relationship was found between logs of extinction values and of antibody concentrations, with a very constant slope, serum titers could be expressed as $\log_{10}$ of the serum dilution corresponding to a definite optical density, such as 0.5. The assay furnished highly reproducible titers on a continuous range, with coefficients of variation less than 10%. Only one or two serum dilutions were usually sufficient for serum titration. To establish correspondence of the enzyme-linked immunosorbent assay titers with biologically determined antitoxin international units, a regression equation was fitted between the respective values for 112 serum samples titrated in both tests. The enzyme-linked immunosorbent assay titer of 2.38 corresponded to an antitoxin titer of 0.01 U, which is considered as the minimal protective level. Simple to perform, economical, and precise, the immunoenzymatic assay seems to be a very practical procedure for seroepidemiological purposes.

*Resumo*: Um ensaio imunoabsorvente com enzima acoplada (ELISA) foi desenvolvido para determinar-se anticorpos Imunoglobulina G anti-toxina-diftérica em soro humano. O ensaio foi

feito em placas plásticas revestidas com toxóide diftérico purificado. Então, uma única reta foi achada entre logs de valores de extinção e de concentrações de anticorpos, com uma inclinação muito constante, e os títulos séricos puderam ser expressos como $\log_{10}$ do correspondente soro diluído à uma definida densidade óptica, tal como 0,5. O ensaio forneceu títulos altamente reprodutíveis numa razão contínua, com coeficientes de variação menores que 10%. Somente uma ou duas diluições séricas foram geralmente suficientes para a titulação do soro. Para estabelecer a correspondência dos títulos no teste de ELISA com UI de antitoxina determinada biologicamente, uma equação de regressão foi ajustada entre os valores respectivos para 112 amostras de soro titulados em ambos os testes. O título em ELISA de 2,38 correspondeu a um título de antitoxina de 0,01 U que é considerado como o nível mínimo de proteção. Simples de executar, econômico e preciso, o teste de ELISA parece ser um método prático para finaliades soroepidemiológicas.

21. CARBONARE, S.B.; ADELINO, M.G.F.; UMEKITA, L.F.; TAKEDA, A.K.
Imunidade humoral anti-meningocóccica detectada pelo teste de atividade bactericida.
*Vac. Soros*, *1*:44-9, 1985.

*Resumo*: Foi padronizada a reação de atividade bactericida pela técnica do plaqueamento, a fim de se verificar a existência de anticorpos bactericidas para Neisseria meningitidis no sangue. Foram experimentadas inúmeras variáveis e determinadas as condições ótimas para o cultivo das bactérias, procedimento da reação e leitura dos resultados.
Num estudo feito em 128 soros de adultos e crianças vacinadas com o polissacarídeo meningocóccico grupos A e C, houve uma concordância de 88% entre os resultados do teste de atividade bactericida e da reação de hemaglutinação passiva. Comparando-se os títulos de anticorpos anti polissacarídeo determinados pela reação de hemaglutinação passiva, observou-se que os soros com altos títulos de anticorpos hemaglutinantes apresentavam maior atividade bactericida.
Discute-se neste trabalho as dificuldades e as vantagens do teste bactericida, em comparação com a reação de hemaglutinação passiva.

*Abstract*: Bactericidal antibodies to Neisseria meningitidis have been determined in blood samples by means of a bactericidal activity test. Several experimental requirements have been tested in order to determine the best conditions for culture, components of the reaction mixture, proceeding of the assay, plating and colony couting.
A concordance of 88 per cent was observed in a study with 128 serum samples of vaccinated people (children and adults) tested by bactericidal activity and passive haemagglutination assays. Sera with higher hemagglutinating antibodies titles showed higher bactericidal activity.
In this paper are discussed the difficulties and the advantages of the bactericidal test, in comparison with the passive hemagglutination assay.

22. CEI, J.M.; RUIZ, I.R.G.; BEÇAK, W.
*Odontophrynus barrioi*, a new species of anuran from Argentina.
*J. Herpetol.*, *16*(2): 97-102, 1982.
*Abstract*: A new species of Odontophrynus from 2200m altitude in the Sierra de Famatina, Argentina, is described. Morphological as well as cytogenetic features differentiate the new species, O. barrioi, from the populations of the O. occidentalis group.

*Resumo*: Descreve-se uma nova espécie de *Odontophrynus* que vive a 2200m de altitude na Serra de Famatina, Argentina. Características morfológicas, bem como citogenética, diferenciam a nova espécie *O. barrioi* das demais populações do grupo *O. occidentalis*.

23. COIRO, J.R.R.; BRUNNER JR., A.; MITSUTANI, C.Y.
A method for the marginal band observations in *Gallus gallus* and *Geochelone carbonaria* erythrocytes.
*Iheringia*, Ser. Zool., *54*:35-40, 1979.

*Abstract*: In hemolysed blood smears from adult normal chickens (Gallus gallus — LINNEU, 1758) and adult normal chelonian (Geochelone carbonaria — SPIX, 1824) as well as the same chelonian with phenylhydrazine induced anemia, the marginal band has been detected in its integral form, or dissociated in its constituents microtubules. The diameters of these structures are about the same as those obtained in ultrathin sections. The method, although drastic for the cells, did not desintegrate the microtubules, suggesting a high stability of these structures.

*Resumo*: Em esfregaços de sangue hemolisado, de galinha adulta normal (*Gallus gallus* — LINNEU, 1758) e de tartaruga adulta normal (*Geochelone carbonaria* — SPIX, 1824), bem como de tartaruga com anemia induzida pela fenilhidrazina, a banda marginal foi detectada na forma íntegra ou dissociada em seus microtúbulos constituintes. Os diâmetros dessas estruturas são os mesmos que os obtidos em cortes ultrafinos. O método, embora drástico para as células, não provoca a desintegração dos microtúbulos, sugerindo uma alta estabilidade dessas estruturas.

24. COIRO, J.R.R.; BRUNNER JR., A.; MITSUTANI, C.Y.; WEISZ, V.M.; FIORI, A.M.C.
The marginal band and its role in the ellipsoidal shape of *Geochelone carbonaria* erythrocytes.
*Arch. Anat. Micr.*, *67*(2):133-43, 1978.

*Abstract*: Erythrocytes from a chelonian (Geochelone carbonaria) were submitted to physical and chemical treatments. Observations of their change in shape from ellipsoidal to spherical were made by means of light microscopy. A 100% change to the spherical shape was attained with eryth-

rocytes under high temperature treatment (42°C) for 45 min., and at room temperature (29°C) plus colchicine, for 60 min. Erythrocytes kept at room temperature present changes in shape while those kept at low temperature (10°C) did not exhibit significant changes in their original ellipsoidal shape, but displayed and intact marginal band (MB).

By direct examination the diameter of microtubules was found to be nearly 300 A in the dissociated form and 0.70 μ when bundled. In cross section the value found for microtubule diameter was up to 210 A. These measures are compatible with those found by several other authors. Counting of microtubules by ultrathin sectioning indicated approximately 70 tubules per cell, a value that is higher than that found in other species. By means of electron microscopy the marginal band can be observed intact or dissociated into several dense rings formed by parallel microtubules running nearly or accompanying the periphery of the stroma. Temperature and colchicine are responsible for the depolymerization of the microtubules.

In the stroma of spherical erythrocytes a dense peripheric fold can be observed but microtubules were never found. It is suggested therefore that the role of the marginal band is essential to maintain the ellipsoidal shape of chelonian erythrocytes.

*Resumo*: Eritrócitos do quelônio *Geochelone carbonaria* foram submetidos a tratamentos físicos e químicos. A modificação da forma elipsoidal para esférica foi observada através da mcroscopia óptica. Uma modificação em 100% para a forma esférica foi obtida em eritrócitos tratados a alta temperatura (42°C) por 45 min. e a temperatura ambiente (29°C), com colchicina, durante 60 min. Eritrócitos mantidos a temperatura ambiente apresentaram modificações na forma, enquanto eritrócitos mantidos a baixa temperatura (10°C) não exibiam modificações significantes na forma elipsoidal e apresentaram uma banda marginal (MB) intacta.

Pelo exame direto, o diâmetro dos microtúbulos era de aproximadamente 300 A na forma dissociada e 0,70 μ quando enfeixados. Em secções transversais o diâmetro atingia até 210 A. Estas medidas são compatíveis com as encontradas por vários outros autores. A contagem de microtúbulos em cortes ultrafinos mostrou aproximadamente 70 túbulos por célula, valor mais alto que o encontrado em outras espécies. Através da microscopia eletrônica, a banda marginal pode ser observada intacta ou dissociada em vários anéis densos, formados por microtúbulos paralelos dispostos proximamente, acompanhando a periferia do estroma. Temperatura e colchicina são responsáveis pela despolimerização dos microtúbulos. No estroma de eritrócitos esféricos uma densa dobra pode ser encontrada, porém microtúbulos nunca foram observados. Sugere-se, portanto, que a função da banda marginal é essencial á manutenção da forma elipsoidal dos eritrócitos de quelônios.

25. CORDEIRO, C. L. S.; HOGE, A. R.; SAWAYA, P.
Criação de serpentes em cativeiro.
*Rev. Biotérios*, *1*:25-30, 1981.

*Resumo*: Mantiveram-se Boipevas *Waglerophis merremii* (WAGLER, 1824) e Cascavéis Crotalus durissus cascavella Wagler, 1824 em laboratório, durante cerca de 2 anos para estudos experimentais a saber: determinação da resistência a anestésicos (Boipeva) o registro de curvas de crescimento (Cascavel). O alimento consistiu principalmente de Sapos (*Bufo ictericus ictericus* SPIX, 1824) para as Boipevas e Camundongos (*Mus musculus* LINNAEUS, 1758) para as cascavéis.

*Abstract*: Some tropical snakes — "Boipevas" (*Waglerophis merremii*) (WAGLER, 1824) and Rattlesnakes (*Crotalus durissus cascavella* WAGLER, 1824) were kept in laboratory for experimental work. Resistence to anesthetics was determined in *Waglerophis merremii* and the grosth was studied on Rattlesnakes. For both snakes food intake and temperature have been recorded.

26. CORDEIRO, C. L. S. & SAWAYA, P.
Variação do nível de glicose no plasma sanguíneo de boipeva *Waglerophis merremii* (Wagler, 1824) — (Serpentes-Colubridae) sob a influência de anestésicos inalantes.
*Bol. Fisiol. Animal*, *6*:151-73, 1982.

*Resumo*: Determinaram-se as variações da glicemia em serpentes Colubridae *Waglerophis merremii* (WAGLER, 1824) antes e depois da anestesia pelo éter, metoxifluorano, halotano e clorofórmio.

Antes da anestesia o teor glicêmico variou de 13,2 a 119 mg%. Submetidas as serpentes ao anestésico, verificou-se, logo no início, excitação acentuada e movimentos intensos. A anestesia pelo éter ocorreu em 20 minutos, pelo metoxifluorano também em 20, pelo halotano em 60 e pelo clorofórmio em 180 minutos. A cada 10, 20, 60, 180, 360, 540 e 1.440 minutos retirava-se uma amostra de sangue diretamente do coração e determinava-se o teor glicêmico. Durante a anestesia fizeram-se observações da serpente, que foram registradas nas Tabs. I a VII.
A glicemia foi determinada pelo método da orto-toluidina (DUBOWSKI, 1962).

O tempo de recuperação da anestesia foi, em minutos, para o éter 33; para o metoxifluorano 348; para o halotano 98 1/2 e para o clorofórmio 102.

A inclinação da curva referente ao halotano (Fig. 6) foi sensivelmente mais acentuada que a do éter (Fig. 4), o que significou um metabolismo mais rápido do halotano.
Os resultados obtidos das diversas experiências conduzem á conclusão de que o anestésico mais favorável para a *Waglerophis merremii* vem a ser o halotano, em virtude do menor tempo exigido para anestesia total e também o menor tempo para a recuperação, isto é, para a glicemia voltar ao teor encontrado antes da anestesia.

*Abstract*: According to McDONALD (1976) the physiological effects of anesthetics on reptiles are poorly known, and anesthetication or tranquilization of specimens solely for the experimenter's convenience may needlessly confuse interpretation of results.
This paper deals with the study of the recations of the Brazilian snake called "Boipeva" — *Waglerophis merremii* (WAGLER, 1824) — under the influence of ether, metoxyfluorane, halothane and chloroform — measured by the variation of glucose into the blood.
Before anesthesia a sample of blood was taken off and the amount of glucose determined by the ortho-toluidin method (DUBOWSKI, 1962).
For the anesthesia, the snake was closed into a jar with some amount of the anesthetic by using a special mask indicated in the Fig. 3. The reactions of the snake during the anesthesia were recorded. When the animal was completely tranquilized samples of 1 ml of blood were taken off 10, 20, 60, 180, 360, 540, 1.440 minutes. Tables n. I - VII, indicate the results of the amount of glucose into the blood fcr each anesthetic.
According to the results ether takes 20 minutes for complete anesthesia and after 32 minutes the animal was recuperated, that is, the amount of glucose reached approximately the normal level (59,3 mg%) 1.440 minutes, with methosyfluorane the figures were 31,8 mg% in minutes for the normal level of anesthetic; for halothane, the records are showing 45,6 mg% and 1.440 minutes for the normal level, that is 41,0 mg%. Finally, with chloroform the time for anesthesia was 180 minutes, and that for complete recovering 1.200 minutes and the initial level of 42,0 mg% was reached.
In conclusion, the results obtained indicate that for the snake, *Waglerophis merremii*, the best anesthetic was halothane.

27. COSTA, L. M.; BERRA, J. A. P.; TAKEDA, A. K.; GIGGLIO, J. R.; SAMPAIO, S. V.; SOERENSEN, B.
Estudo imunológico das frações A, B e C do veneno do escorpião brasileiro *Tityus serrulatus*.
*Vac. Soros*, 1:30-8, 1985.

*Resumo*: Foram obtidos 3 frações atóxicas (A, B e C) após a filtração em Sephadex G, 25 e Cromatografada em CM Celulose. Estudos em camundongos mostraram que a fração A e B possuíam toxicidade em torno de 10 e 50 $DL_{50}$ enquanto que a letalidade da fração C era equivalente a 50$DL_{50}$ do veneno bruto. A antigenicidade analisada através da reação de imunoeletroforese contra o soro Antiescorpiônico do Instituto Butantan mostrou que a Fração A possuía 3 linhas de precipitação a Fração B, 6 e a Fração C apresentaram 3 linhas além das 9 observadas no veneno bruto. A imunogenicidade das Frações A, B e C em coelhos foi analisada pelas reações de imunoeletroforese, imunodifusão dupla radial e imunoeletroforese cruzada, onde observou-se que a Fração C é mais imunogênica que as demais, induzindo a formação de anticorpos, que conseguem neutralizar até 10 $DL_{50}$ do veneno bruto.

*Abstract*: Atoxic fraction of brasilian scorpion venom, *Tityus serrulatus*, obtained after Sephadex G-25 filtration and CM-Celulose 52 chromatography, was separated in three fractions (A, B and C). In studies carried out in mice, A and B fractions showed toxicity about 10 and 50 $DL_{50}$ respectively, C fraction was lethal when inoculated in a concentration equivalent to 50 $DL_{50}$ of the whole venom. The antigenicity studied throught immunoelectrophoresis reaction with anti scorpion serum of Butantan Institut, we got 3 lines, B fraction 6 lines, while C fraction showed 3 lines besides the 9 observed in whole venom. The immunogenicity of A, B and C fraction in rabbits, was analysed through Immunoelectrophoresis, Double Radial Immunodiffusion and Counter Immunoelectrophoresis and it was concluded that fraction C was more immunogenic then others, in inducing antibody formation, that neutralises until 10 $DL_{50}$ of Whole venom.

28. COSTA, L. M.; TAKEDA, A. K.; BARBOSA, S. F. C.; BERRA, J. A. P.; ADELINO, M. G. F.; SOERENSEN, B.; PINTO, J. R.; VANCETTO, M. D. C.
Estudo comparativo da resposta imune de cavalos ao veneno do *Crotalus durissus terrificus*, in-natura, tratado com formaldeído e submetido à ação térmica.
*Vac. Soros*, 1:24-9, 1985.

*Resumo*: Foi verificada a ação imunogênica do veneno *Crotalus durissus terrificus* detoxificado pelo tratamento com formaldeído e pela ação térmica.
A intensidade da detoxificação obtida nestes dois tipos de tratamento foi comparada a $DL_{50}$ do veneno "in-natura" em camundongos NIH-N de 14 a 16g. O tratamento com formaldeído foi mais eficiente que a ação térmica, uma vez que a letalidade foi 10% no grupo de camundongos inoculados com o veneno tratado com formaldeído numa concentração equivalente à 4 $DL_{50}$, enquanto que, à mesma concentração do veneno submetido à ação térmica, a letalidade foi de 100%.
Com relação à resposta imune em cavalos, o veneno detoxificado pelo formaldeído apresenta melhor característica imunogênica quando comparada com o veneno submetido à ação térmica avaliada através da reação de Hemaglutinação Passiva (HAP) e testes *in vivo* (em pombos).

*Abstract*: The imunogenicity of a snake *Crotalus durissus terrificus* venom detoxified by formaldehyde and by heat treatment was tested. The degree of detoxification obtained in each treatment was determined in 14-16g NIH-N mice compared with $LD_{50}$ of the untreated venom. It was found that the detoxifing action of formaldehyde was more efficient, since the letality was 10% in the group of mice inoculated with 4 $LD_{50}$, meanswhile the letality of the heat treated venom was 100% Passive Hemagglutination test and *in vivo test* (in pigeons) showed that horses inoculated with formaldehyde treated venom, presents better results in both tests.

29. EICKSTEDT, V. R. D. von-
Considerações sobre a sistemática das espécies amazônicas de *Phoneutria* (Araneae, Ctenidae).
*Rev. Bras. Zool.*, *1* (3): 183-91, 1983.

*Resumo*: É feita a redescrição da espécie *Phoneutria fera* Perty (Araneae, Ctenidae), baseada em 44 espécimes da região amazônica e demonstrado que *Ctenussus* Strand corresponde ao macho de *fera*. A sinonímia de *Phoneutria reidyi* (Pickard-Cambridge) com *Phoneutria rufibarbis* Perty, anteriormente proposta, é rejeitada e *reidyi* é revalidada.

*Abstract*: *Phoneutria fera* Perty, 1833 is redescribed, based on 44 specimens (male and female) and *Ctenus sus* Strand, 1910 is synonymized, as it represents the male of fera.
The synonymy of *Phoneutria reidyi* (Pickard-Cambridge, 1897) with *Phoneutria rufibarbis* Perty, 1833 is discussed and *reidyi* is revalidated.

30. FURLANETTO, R. S.; BELLUOMINI, H. E.; IIZUKA, H.; ROLIM ROSA, R.
Epizootia provocada por um bacilo difteróide em serpentes mantidas em biotério.
*Rev. Microbiol.*, *10* (4): 139-43, 1979.

*Resumo*: No presente informe, é descrito o isolamento de bacilo difteróide de uma moléstia infectocontagiosa, até então não descrita, de caráter epizoótico, que acometia cerca de 70% das serpentes dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus* produtores de venenos destinados ao preparo de soros antiofídicos. A prevenção da moléstia somente foi conseguida através da imunoprofilaxia, com o emprego de vacina tipo Wright, inativada pelo formol. A sua eficiência foi avaliada pela redução da incidência da infecção que, de 70%, caiu para 0,40%.

*Abstract*: Isolation of an etiological agent of a new infecto-contagious disease, of epizootic character, affecting approximately 70% of the snakes of the genera *Bothrops* and *Crotalus*, maintained in captivity to obtain the venoms for anti-ophidic serum production. Prophylaxis against the disease was achieved through a vaccine, prepared in liquid medium, inactivated by formol, whose effectivity could be evaluated by the reduction from 70% to 0,4% in the indice of infection.

31. FURUTA, J. A.; ROLIM ROSA, R.; OLIVEIRA, E. P. T. de; IIZUKA, H.
Quantificação de anticorpos diftéricos em cobaias; persistência do título de anticorpos séricos em animais inoculados com uma dose de toxóide diftérico.
*Rev. Saúde públ.*, *16*: 97-106, 1982.

*Resumo*: Foi estudado o comportamento da cinética de anticorpogênese em cobaias inoculadas com uma dose de toxóide diftérico precipitado pelo alúmen. Paralelamente, foi estudada a dinâmica da imunidade passiva naturalmente transmitida aos filhotes. Em cobaias vacinadas com uma dose de antígeno, foi verificado que a síntese de antitoxina diftérica persiste, em títulos detectáveis, até 36 meses após. Os anticorpos transferidos, passivamente, da mãe vacinada para os filhotes atingiram nestes, concentrações plasmáticas superiores, sendo que a imunidade perdurou em títulos detectáveis até cerca de três meses de idade dos mesmos.

*Abstract*: The behavior of the kinetic genesis of antibodies in guinea pigs inoculated with doses of an alum precipitated diphtheria toxoid was studied. In a parallel study the dynamic of passive immunity, naturally transmitted to the offspring, was examined. In immunized guinea pigs, it was verified that the diphtheria antitoxin synthesis maintains detectable titers up to 36 months. Antibodies transfered via placenta by the vaccinated mother reached a plasmic concentration in the newborn superior to that of the mother, and the passive immunity persisted in the circulation of the offspring at titers detectable for up to approximately three months.

32. GOMES, D.; SOERENSEN, B.; ISHIZUKA, M. M.
Controle de vitalidade da vacina BCG através dos métodos de contagem de colônias e de consumo de oxigênio.
*Vac. Soros*, *1*: 9-12, 1985.

*Resumo*: Estudou-se comparativamente a vitalidade da vacina BCG através da determinação das unidades vivas pela contagem de colônias e pelo método físico-químico de consumo de oxigênio. Os resultados estatísticos obtidos foram de alta significância mostrando-nos assim a existência de uma correlação entre as duas provas. Considerando-se a exatidão, a rapidez, a simplicidade e a economia da prova de consumo de oxigênio os autores acreditam ser lícito concluir sobre a possibilidade de substituição da prova de contagem de colônias pela de consumo de oxigênio.

*Abstract*: The viability of the BCG vaccine by the determination of the number of culturable particles and the oxygen uptake method, was comparatively studied. The statistic results obtained were very significant and showing us a correlation between the tests. Considering the accuracy, quickness, simplicity and economy of the oxygen uptake method, the authors believing about the possibility of replace the determination of the number of culturable particles by the oxygen uptake method.

33. GUIDOLIN, R.; ZELANTE, F.; FURLANETTO, R. S.; ROLIM ROSA, R.
Vacinação anti-rábica experimental; possível influência da replicação do vírus Flury HEP modificado, no sistema nervoso central, sobre a atividade cérebro-neutralizante.
*Rev. Microbiol.*, *12* (3): 70-4, 1981.

*Resumo:* Instalação e replicação do vírus vacinante Flury HEP no tecido cerebral de animais inoculados. Inoculações intracerebrais (IC) e intramusculares (IM) das vacinas Flury HEP vírus modificado, Flury HEP vírus inativado e tipo Fuenzalida & Palacios, em lotes de 20 camundongos, comprovaram indução de maior atividade cérebro-neutralizante pelo primeiro tipo de vacina. Demonstraram também ser viável a replicação viral no sistema nervoso central (SNC), aparentemente sem danos ao animal. As inoculações via IC e via IM induziram ao aparecimento de corpúsculos fluorescentes no SNC, em maior intensidade ao redor do 8.° dia.

*Abstract:* In a previous paper the authors confirmed the better protection confered by the Flury HEP modified virus vaccine than the others rabies vaccines tested. They proposed now to verify the possibility of the installation and replication of this virus (HEP) in the brain tissues of the inoculated animals. Through intracerebral (IC) and intramuscular (IM) inoculations of Flury HEP modified virus, Flury HEP inactivated virus and Fuenzalida & Palacios vaccines, in groups of 20 mice, they confirmed induction of better braintissue neutralization activity by the former type of vaccine. The authors demonstrated also to be viable the viral replication in the Central Nervous System (CNS) apparently without demages to the animals. The IC and IM inoculations induced to the appearance of specific fluorescent bodies in the CNS that were greater around of the 8th day after the inoculations.

34. HEITZMAN-FONTENELLE, T. J.
Bionomia comparativa de Triatomíneos. III. *Triatoma sordida* (Stal, 1859). (Hemiptera, Reduviidae.)
*Studia Ent.*, *20*(1-4): 89-98, 1978.

*Resumo:* Continuando a observar várias espécies de triatomíneos criados nas mesmas condições laboratoriais, apresentamos uma contribuição à bionomia de Triatoma sordida (Stal, 1859).

*Abstract:* Several Triatominae species have been reared in the same laboratory conditions and here we are studyng the Triatoma sordida life cycle.

35. HEITZMAN-FONTENELLE, T. J.
Bionomia comparativa de Triatomíneos. IV. *Triatoma vitticeps.* Stal, 1835. (Hemiptera, Reduviidae.)
*Ecossistema, 5:* 39-46, 1980.

*Resumo:* Triatoma vitticeps Stal, 1835, teve seu ciclo evolutivo estudado em laboratório, sob os aspectos: tempo de duração do período embrionário, duração dos estados ninfais e dos adultos, repastos, acasalamentos, posturas, número de ovos e de descendentes. Os dados obtidos foram comparados com os triatomíneos já estudados: Panstrongylus megistus e Triatoma sordida.

*Abstract:* The life cycle of Triatoma vitticeps is here studied in laboratory conditions, from oviposition until death of adults. The time of egg evolution, the lenght of time of each nymph instar and the adult life, the number of repast, the mating and the number of ovipositions are discussed.

36. HOGE, A. R. & FEDERSONI JR., P. A.
Manutenção e criação de serpentes em cativeiro.
*Rev. Biotérios, 1:* 63-73, 1981.

*Resumo:* Dados referentes à manutenção e criação de serpentes em laboratório. Tipos de gaiolas. Reprodução em cativeiro. Alimentação. Produção de venenos. Serpentes: Elapidae: *Micrurus* e *Naja.* Viperidae: *Vipera, Calloselasma, Ovophis, Trimeresurus, Bothrops, Crotalus, Lachesis.* Boidae: *Boa, Epicrates.*

*Abstract:* Commentary on breeding habits of snakes in laboratory. Types of cages. Reproduction in captivity. Feeding habits. Venom producticn. Snakes: Elapidae: *Micrurus* and *Naja.* Viperidae: *Vipera, Calloselasma, Ovophis, Trimeresurus, Bothrops, Crotalus, Lachesis.* Boidae: *Boa* and *Epicrates.*

37. HOGE, A.R. & LAPORTA-FERREIRA, I.L.
Manutenção em cativeiro de serpentes dos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus.*
*Rev. Biotérios, 1:* 75-81, 1981.

*Resumo.* Serpentes do gênero Sibynomorphus mantidas em cativeiro a partir de 1977. Através de criação controlada foram obtidos dados sobre seu comportamento e suas necessidades ambientais, possibilitando o estabelecimento de critérios para manutenção de tais serpentes em laboratório, diminuindo a taxa de mortalidade.

*Abstract.* Snakes of the genus Sibynomorphus were maintained in captivity since 1977. Date about behavior, environemental necessita permited the elaboration of criterio for breeding of this snakes in captivity and lowering the mortality rate.

38. HYAKUTAKE, S.; BIASI, P. de; BELLUOMINI, H.E.; SANTA ROSA, C.A.
Leptospiroses in Brazilian snakes.
*Int. J. Zoon., 7:* 73-7, 1980.

*Abstract.* The Authors examined, for the first time in Brasil, by the microscopic serogglutination test, 31 sera of snakes pertaining to 8 venomous, and 8 non venomous species. Agglutinins

against several leptospiral serotypes were detected.
In snakes (of both sexes) the predominant serotype was andamana (80.6%), the only among some of the samples with titers between 1:200 – 1:1.600; other samples in co-agglutination with icterohaemorrhagiae, ballum, canicola, australis, javanica, guaicurus and brasiliensis, present titers between 1:100 – 1:400. Mastigodryas bifossatus bifossatus reacted only against the javanica serotype (1:400), and co-agglutinated with brasiliensis (1:200); Tomodon dorsatus and Xenodon neuwiedii did not show any reaction.
The results of microagglutination test (78.7% positive to *andamana* and 1.6% to icterohaemorrhagiae); the frequency and titers of serotype *andamana* (from 1:100 = 20,8% until 1:6,400 = 2.1%) in *Bothrops pradoi* are presented.
Commented are, in relation to the andamana serotype, the detection of anti-andamana agglutinin in fatal cases of human leptospirosis, as well as the epidemiologic aspect. An examination of sera from the staff of the Department of Venoms at the I.B. gave negative results.
The Authors suggest, mainly on account of the isolation of the andamana serotype from Bothrops pradoi, that snakes probably are a natural reservoir of serotypes. However, the role of reptiles in this respect, inclusive as regards the detection of other serotypes, has to be further analysed.

Resumo: Os autores, através do teste de soroaglutinação microscópica, examinaram, pela primeira vez no Brasil, 31 soros de serpentes, pertencentes a oito espécies peçonhentas e oito não peçonhentas. Detectaram aglutininas contra vários sorotipos de leptospira. Nas serpentes (ambos os sexos), o sorotipo predominante foi *andamana* (80,6%), único para algumas amostras, com títulos entre 1:200 e 1:1.600, em outras amostras ainda em coaglutinação com *icterohaemorrhagiae, ballum, canicola, australis, javanica, guaicurus* e *brasiliensis*, com títulos entre 1:100 e 1:400. *Mastigodryas bifossatus bifossatus* só reagiu contra o sorotipo *javanica* (1:400) e coaglutinou com *brasiliensis* (1:200); *Tomodon dorsatus* e *Xenodon neuwiedii* não apresentaram reação. São apresentados os resultados em *Bothrops pradoi*, dos testes de microaglutinação (78,7% positivo para *andamana* e 1,6% para *icterohaemorrhagiae*), a freqüência e os títulos do sorotipo *andamana* (de 1:100 = 20,8% até 1:6.400 = 2,1%). São comentados, com relação ao sorotipo *andamana*, o encontro de aglutinina anti-*andamana* em casos fatais de leptospiroses humanas, e o aspecto epidemiológico. O exame dos soros dos funcionários da Seção de Venenos do Instituto Butantan apresentou resultado negativo. Sugerem os Autores serem as serpentes prováveis reservatórios naturais de sorotipos, principalmente pelo isolamento do sorotipo *andamana* de *Bothrops pradoi*. Todavia, esse papel dos répteis deve ser melhor analisado, inclusive no que tange à descoberta de outros sorotipos.

39. IIZUKA, H.; FURUTA, J.A.; OLIVEIRA, E.P.T. de.
Difteria; situação imunitária de uma população infantil urbana de São Paulo, SP, Brasil.
*Rev. Saúde públ., 14*:462-8, 1980.

*Resumo:* A verificação do teor de anticorpos antidiftéricos provenientes de 130 crianças de 7 a 10 anos de idade, do Município de São Paulo, Brasil, revelou 31, 14 e 5% de indivíduos susceptíveis nas idades de 7, 8 e 9 anos, respectivamente. Todas as crianças de 10 anos de idade apresentaram proteção contra a difteria, revelando teor de antitoxina circulante em níveis superiores a 0,01 UI/ml. O teor médio de antitoxina diftérica encontrada variou de 0,0385 a 0,1315 UI/ml de soro, na população examinada.

*Abstract.* Ascertainment of the antitetanic immune state in a group of 126 children, 5 to 7 years old, from the infant population of S. Paulo city (Brazil), disclosed 41% and 21% of 5 and 6-year-old individuals respectively, susceptible to tetanus. All the 7-year-old children showed protection against tetanus, revealing a circulating antitoxin content at levels superior to 0.01 IU/ml. By analysis of the results it became clear that susceptibility varies in inverse ratio to age. The mean content of tetanus antitoxin oscillated between 0.0289 and 0.1143 IU/ml of serum.

40. IIZUKA, H.; HIGASHI, H.G.; OLIVEIRA, E.P.T. de; PORTO, A.P.; ASSIS, T. de; NICHEJEVIS, T.; SODRÉ, A.M.
Tétano; situação imunitária de uma população infantil urbana de São Paulo, SP, Brasil.
*Rev. Saúde publ., 13*: 113-8, 1979.

*Resumo:* A verificação do teor de anticorpos antitetânicos provenientes de 126 crianças de 5 a 7 anos de idade, do Município de São Paulo (Brasil), revelou 41 e 21% de indivíduos susceptíveis na faixa etária de 5 a 6 anos, respectivamente. Todas as crianças de 7 anos de idade apresentaram proteção contra o tétano, revelando teor de antitoxina circulante em níveis superiores a 0,01 UI/ml. Pela análise dos resultados foi constatado que a susceptibilidade varia na razão inversa da idade. O teor médio de antitoxina tetânica encontrada variou de 0,0289 a 0,1143 UI/ml de soro, na população examinada.

*Abstract.* Ascertainment of the antitetanic immune state in a group of 126 children, 5 to 7 years old, from the infant population of S. Paulo city (Brazil), disclosed 41% and 21% of 5 and 6-year-old individuals respectively, susceptible to tetanus. All the 7-year-old children showed protection against tetanus, revealing a circulating antitoxin content at levels superior to 0.01 IU/ml. By analysis of the results it became clear that susceptibility varies in inverse ratio to age. The mean content of tetanus antitoxin oscillated between 0.0289 and 0.1143 IU/ml of serum.

41. KAMIGUTI, A.S.; MATSUNAGA, S.; SPIR, M.; SANO-MARTINS, I.S.; NAHAS, L.

Alterations of the blood coagulation system after accidental human inoculation by *Bothrops jararaca* venom.
*Brazilian J. Med. Biol. Res.*, *19*:199-204, 1986.

*Abstract:* Blood coagulation studies carried out on 78 patients up to 30 hafter they were bitten by Bothrops jararaca snakes demonstrated clotting defects in 37 patients which included afibrinogenemia, reduced levels of prothrombin, of factors V and VIII, thrombocytopenia and activation of the fibrinolytic system. Factor IX and X levels were within normal range for all patients.
These in vitro data suggest that the disseminated intravascular clotting observed in vivo following envenomation may be triggered by the intravascular release of patient thrombin by snake venom enzymes.

*Resumo:* Estudos de coagulação realizados em 78 pacientes até 30 horas após terem sido picados por serpentes *Bothrops jararaca* demonstraram defeitos de coagulação em 37 pacientes, incluindo afibrinogenemia, reduzidos níveis de protombina, fatores *V* e *VIII*, trombocitopenia e ativação do sistema fibrinolítico. Os níveis dos fatores *IX* e *X* estavam dentro dos limites normais em todos os pacientes.
Esses dados *in vitro* sugerem que a coagulação intravascular disseminada *in vivo* após o envenenamento pode ter sido conseqüência da liberação de trombina intravascular no paciente pelas enzimas do veneno da serpente.

42. KAMIGUTI, A.S.; SOUSA e SILVA, M.C.C.; MORENA, P.; NAHAS, L.
The anticoagulant effect of *Bothrops castelnaudi* snake venom (Castelnaud's pit viper).
*Toxicon*, *23*(3):383-91, 1985.

*Abstract:* An inhibitory effect of Bothrops castelnaudi venom was observed on the following systems: prothrombin time, activated partial thromboplastin time, thrombin time, thromboplastin generation time, activation of factor X by Russell's viper venom and Russell's viper venom activated factor X (factor X). This effect did not require previous incubation and was prevented by the addition of Bothrops-antivenom. The prolonged activated partial thromboplastin time was not shortened by increased phospholipid concentration (0,5 — 10 mg/ml), suggesting that the inhibitory effect is not due to an antiphospholipid activity. No significant fibrinogenolytic activity was detected upon incubation of human fibrinogen with the venom, since physiological levels of thrombin-clottable material were still present. Compared to Bothrops jararaca venom, the proteolytic activity on casein and on azocoll was very low. Thrombin-induced clots of human plasma and fibrinogen were not lysed by the venom within 24 hr. The results indicate that the anticoagulant effect of Bothrops castelnaudi venom is exerted at least at two levels of the blood coagulation mechanism: (1) before prothrombin activation, by inhibiting factor X-activation and factor X, activity; (2) by direct action on thrombin.

*Resumo:* Um efeito inibitório do veneno de *Bothrops castelnaudi* foi observado nos seguintes sistemas: tempo de protrombina, tempo de tromboplastina oarcial ativada, tempo de trombina, tempo de geração de tromboplastina, ativação do fator *X* pelo veneno de *Vípera russellii* e atividade do fator *X*a. Este efeito não requereu a incubação prévia e não foi prevenido pela adição do soro anti-*Bothrops*. O tempo de coagulação prolongado do teste do tempo de tromboplastina parcial ativada não foi encurtado pelo aumento da concentração de fosfolipídeo (0,5 — 10mg/ml), sugerindo que o efeito inibitório não é devido a uma atividade antifosfolipídeo. Nenhuma atividade fibrinogenolítica significativa foi detectada após incubação do fibrinogênio humano com o veneno, pois níveis fisiológicos de material coagulável pela trombina ainda estavam presentes. Comparado com o veneno de *B. jararaca*, a atividade proteolitica sobre a caseína e o azocoll foi baixa. Os coágulos formados pela trombina de plasma e fibrinogênio humanos não foram lisados pelo veneno em 24 horas. Os resultados indicam que o efeito anticoagulante do veneno de *Bothrops castelnaudi* é exercido pelo menos em dois pontos do mecanismo da coagulação sangüinea: (1) antes da ativação da protrombina, pela inibição da ativação do fator *X* e da atividade do fator *X*a; (2) pela ação direta sobre a trombina.

43. KELECOM, A.; ZELNIK, R.; RABENHORST, E.
Absolute configuration of Ibozol [ 1 ].
*An. Acad. Brasil. Ciênc.*, *55*(4): 351-3, 1983.

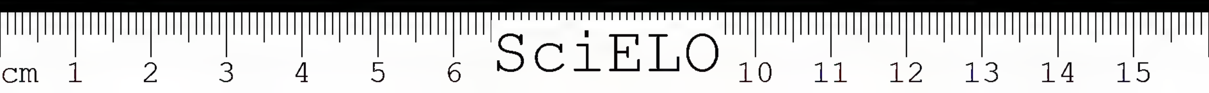
*Abstract*: The absolute configuration of ibozol, the main diterpene from Brazilian *Iboza riparia*, is deduced from the ORD and CD spectra of two ibozol derivatives.

*Resumo*: A configuração absoluta do ibozol, o principal diterpeno de *Iboza riparia* do Brasil, é deduzida dos espectros de DOR e DC de dois derivados de ibozol.

44. KELEN, E.M.A.; HRUBY, V.J.; TOMY, S.C. de; PINHEIRO, M.E.P.
Hementerin; a potent in vitro activator of the human fibrinolytic system. In: DAVIDSON, J.F.; BACHMANN, F.; BOUVIER, C.A.; KRUITHOF, E.K.O. *Progress in fibrinolysis*. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1983, v. 6, p. 95-98.

*Abstract*: The salivary glands extract hementerin, obtained from some Brazilien blood-sucking leaches of the genus *Haementeria* (Haemostasis 4:51, 1975) showed a potent fibrinogenolytic/fibrinolytic activator activity. It prevented the cloting of human plasma by thrombin after incubation, and lysed unheated human and bovine fibrin plates but not the heated plates. Lysis of





charcoal-absorbed fibrin plates was reduced both with hementerin (HT) and streptokinase (SK). HT was not inhibited by epsilonaminocaproic acid or by aprotinin as opposed to SK controls. Lysis of human fibrin plates was only slightly reduced by high concentrations of soybean trypsin inhibitor added to the sample, while SK controls were fully inhibited. The activity of HT was present after incubation with trypsin from one to 24 hours but was slightly reduced in the 24 hours sample. Fractionation was performed by gel chromatography on Sephadex G-200 with 0.15 M sodium chloride. The elution pattern monitored by UV absorbance at 260 nm showed three peaks that corresponded to ~10, 25 and 50% of the 100% optical density (OD) of the applied sample The active material had very low OD (1,5%) and was eluted between the first and the second peak as monitored by a thrombin clotting time test. It did not respond to protein or glycoprotein staining procedures after electrophoresis on 5% polyacrylamide gels with alkaline discontinuous buffers. However, it was located at about 1.4 cm from the origin by an *in situ* assay on fibrin-cellulose acetate strips. The molecular weight lies between 60,000 and 180,000 daltons as determined by the elution volume of three standard proteins (IgG, bovine serum albumin, and cytochrom C). Results suggest a non-protein acidic nature of a macromolecule that might be activating a mechanism independent of the plasminogen-plasmin system. (Research supported in part by the FAPESP Grant n.° 78/0735, the FEDIB, and the USPHS Grant n.° AM 17420).

*Resumo*: O extrato de glândulas salivares, hementerina, obtido de sanguessugas hematófagas brasileiras do gênero *Haementeria* (Haemostasis *4*: 51, 1975) mostrou uma potente atividade ativadora de fibrinogenólise/fibrinólise. Após incubação prévia, impediu a coagulação do plasma humano pela trombina, e lisou placas não aquecidas de fibrina humana e bovina, mas não as aquecidas. A lise de placas de fibrina adsorvida pelo carvão foi reduzida, tanto com hementerina (HT) como com estreptoquinase (SK). HT não foi inibida pelo ácido epsilonaminocaproico ou pela aprotinina, ao contrário dos controles de SK. A lise de placas de fibrina humana foi apenas levemente reduzida pela adição à amostra, de elevadas concentrações de inibidor de tripsina de soja, enquanto que os controles de SK foram totalmente inibidos. A atividade de HT estava presente após incubação de uma a vinte e quatro horas com tripsina, embora estivesse levemente reduzida na amostra de vinte e quatro horas. Foi realizado fracionamento por cromatografia em gel de Sephadex G-200 com cloreto de sódio 0,15 M. O perfil de eluição, monitorado por absorvância UV a 260nm, mostrou três picos que corresponderam a ~10, 25 e 50% da densidade ótica de 100% (OD) do material aplicado. O material ativo mostrou OD muito baixa (1.5%) e era eluído entre o primeiro e o segundo pico, monitorado pelo teste de coagulação pela trombina. Não respondeu aos processos de coloração para proteínas ou glicoproteínas após eletroforese em gel de poliacrilamida 5% em tampão alcalino descontínuo. Entretanto, foi localizado a 1,4 cm da origem por um ensaio *in situ* sobre tiras de acetato de celulose-fibrina. O peso molecular está entre 60.000 e 180.000 daltons e foi determinado pelo volume de eluição de três proteínas padrão (IgG, soro albumina bovina e citocromo C). Os resultados sugerem que uma macromolécula não protéica de natureza ácida poderia estar ativando um mecanismo independente do sistema plasminogênio-plasmina. (Auxílios parciais FAPESP n.° 78/0735, FEDIB e USPHS Grant n.° AM 17420).

45. KELEN, E.M.A.; ROSENFELD, G.; VAINZOF, M.; MACHADO, Z.C.
Experimental defibrination with bothropase.
*Haemostasis*, *7*:35-45, 1978.

*Abstract*: Fibrinogen was depleted in dogs injected with a single dose of bothropase even if pretreatment followed by a continuous infusion of antifibrinolytic drugs was performed during defibrination. The activation of the fibrinolytic system as a secondary effect of the defibrination syndrome induced by bothropase injection was blocked completely by aprotinin (Trasylol) but not by EACA. Plasmin activity in spite of the inhibition of plasminogen activator suggests that, either an excess of activator is released in circulation, or a plasmin-antiplasmin complex is dissociated by the circulating fibrin, according to the hypothesis of Ambrus and Markus [1], and Back *et al.* [4] for the mechanism of fibrinolysis *in vivo*. An experimental model is suggested for the study of the fibrinolytic mechanism *in vivo*, by the association of defibrinating agents, antivenom and antifibrinolytic drugs.

*Resumo*: Depleção do fibrinogênio foi induzida em cães injetados com dose única de botropase, mesmo quando se realizou o pré-tratamento com substâncias fibrinolíticas seguido de sua infusão contínua durante a desfibrinação. A ativação do sistema fibrinolítico como um efeito secundário da síndrome de desfibrinação induzida pela injeção da botropase foi completamente bloqueada pela aprotinina (Trasylol), mas não pelo EACA. Atividade de plasmina apesar da inibição do ativador de plasminogênio sugere que, excesso de ativador é liberado na circulação, ou um complexo plasmina-antiplasmina é dissociado pela fibrina circulante, de acordo com a hipótese de Ambrus e Markus (1), e Back *et al.* (4) para o mecanismo da fibrinólise *in vivo*. Um modelo experimental é sugerido para o estudo do mecanismo fibrinolítico *in vivo*, pela associação de agentes desfibrinantes, antiveneno e substâncias antifibrinolíticas.

46. LIZASO, N.M.
Levantamento da fauna acarológica ectoparasita de serpentes não venenosas do Estado de São Paulo.
*Rev. Bras. Zool.*, *1*(3):203-9, 1983.

*Resumo*: Foi revisto o material acarológico ectoparasita de serpentes coletadas no Estado de São Paulo no período compreendido entre março de 1976 a setembro de 1979. São feitas considera-

ções de sistemática e ecologia referentes aos gêneros estudados. Foram examinadas 1969 serpentes pertencentes a 30 gêneros tendo sido identificadas 4 famílias e 7 gêneros de ácaros. O estudo inclui dados de parasitismo único ou múltiplo, diversidade da fauna acarológica e abundância de cada gênero com referência às serpentes que parasita.

*Abstract*: The ectoparasitic mite fauna of non-poisonous snakes from the Estado de São Paulo was surveyed during the period of March, 1976 to September, 1979. Considerations are made about the systematic and ecology of the genera studied. A total of 1969 snakes belonging to 30 genera was examined. This study also includes data on multiple parasitism, diversity of the mite fauna, abundance of each genera of mite, for the 4 families and 7 genera of mites.

47. LIZASO, N.M.
Novos gêneros e espécies de ácaros (*Mesostigmata, Ixodorhynchidae*) ectoparasitas de serpentes.
*Rev. Bras. Zool.*, *1*(3): 193-201, 1983.

*Resumo*: Relaciona-se o material acarológico ectoparasita de serpentes brasileiras coletado no período compreendido entre março de 1976 a dezembro de 1979. Faz-se um estudo da sistemática dos Ixodorhynchidae que são parasitas exclusivos de serpentes em todas as fases de seu desenvolvimento. Descrevem-se 2 gêneros novos: *Ophiogongylus* gen. n. com 2 espécies: *Ophiogongylus rotundus* sp. n. e *Ophiogongylus breviscutum* sp.n., e *Chironobius* gen.n. com 2 espécies: *Chironobius alvus* sp.n. e *Chironobius nordestinus* sp.n. São também descritos *Ixobioides brachispinosus* sp.n. e o macho de *Ixobioides fonsecae* (Fain). Considera-se também as formas imaturas, relações de hospedeiros e parasitas e distribuição geográfica.

*Abstract*: Ectoparasitic mites on Brazilian non-poisonous snakes, collected from March 1976 to December 1979, are herein reported. A systematic study of the Ixodorhynchidae, which include exclusively parasites of snakes is given, including all immature forms. Two new genera are described: *Ophiogongylus* gen. n. with two species: *Ophiogongylus rotundus* sp.n. and *Ophiogongylus breviscutum* sp.n. and *Chironobius* gen.n. with two species: *Chironobius alvus* sp.n. and *Chironobius nordestinus* sp. n. *Ixobioides brachispinosus* sp.n. and the male of *Ixobioides fonsecae* (Fain) are also described. Immature forms, hosts relations and geographical distribution are given for the species.

48. LOPES, L.M.X. & ZELNIK, R.
Ciano-hidantoínas de iononas.
*An. Acad. Brasil Ciênc.*, *56*(2):137-41, 1984.

*Resumo*: A partir de iononas, pelo método de Bucherer Bergs, obtém-se, além dos derivados hidantoínicos esperados, hidantoínas hidrocianadas (adição 1,4 à cetona etilênica).

*Abstract*: The synthesis of the hydantoins of ionones by the Bucherer-Bergs method yields the cyano derivatives through 1,4-addition of HCN to the ethylenic ketone of the terpenic hydantoins.

49. LOURENÇO, W.R.; EICKSTEDT, V.R.D. von.
Présence du genre *Microtityus* (Scorpiones, Buthidae) au Brésil; description de *Microtityus vanzolinii* sp.n.
*Rev. Arachnologique*, *5*:65-72, 1983.

*Résumé* — Dans une collection d'Arachnides récoltés à l'état de Amazonas (Brésil) ont été identifiés deux exemplaires de *Microtityus* (Scorpiones, Buthidae). En ce travail ils sont décrits comme une nouvelle espèce pour de genre, *Microtityus vanzolinii* sp.n., qui est l'huitième mentionnée du genre et la première citée por le Brésil.

*Resumo* — Numa coleção de aracnídeos coletados no estado do Amazonas (Brasil) foram identificados dois exemplares de *Microtityus* (Scorpiones, Buthidae). Neste artigo eles são descritos como uma espécie nova desse gênero, *Microtityus vanzolinii* sp.n., que é a oitava mencionada para o gênero e a primeira citada para o Brasil.

50. MALUCELLI, M.I.C.; SHIMIZU, Y; SAKAUCHI, M.A.; PEREIRA, A.; PIETRO, A.S.; CREPALDI, R.F.; PEREIRA, M.M.M.
Influência da adição de antiespumante no cultivo de *Bordetella pertussis* em fermentadores.
*Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo*, *22*(2):103-13, 1986.

*Resumo:* O tempo de destoxificação, o rendimento e a potência da vacina Pertussis foram avaliados em cultivos de *Bordetella pertussis* isentos e adicionados com diferentes concentrações de antiespumante em fermentadores (Biolafitte 50L). Foram realizadas modificações nos fermentadores e no procedimento da fermentação, com a finalidade de evitar a formação de espuma nos cultivos. Suspensões de B. pertussis com antiespumante apresentaram maior tempo de destoxificação e menor rendimento quando comparadas com aquelas isentas do agente químico. Em todos os processos, a potência foi superior a 8 UI/ml, estando de acordo com as recomendações da Organização Mundial da Saúde.

*Abstract:* The time of detoxification, the yield of production and pertussis vaccine potency were evaluated in *B. pertussis* culture both without and with different concentrations of antifoam in fer-

menters (Biolafitte 50L). Modifications in the fermenters and in fermentation procedure were achieved to avoid foam formation in the culture. *Bordetella pertussis* suspensions with antifoam presented an increase in the time of detoxification and a lower yield of production when compared with those without the chemical agent. In all operations the potency was higher than 8 UI/ml, which is a satisfactory result according to the WHO recomendations.

51. MANCINI, D.A.P.; NASCIMENTO, E.M.M.; TAVARES, V.R.; LUCCHIARI, M.A.; PRADO, J.A.; SOARES, M.A.
Vacina inativada contra gripe trivalente. Estudo comparativo da resposta imunitária pelos métodos de inibição de hemaglutinação e da hemólise radial simples.
*Rev. Saúde públ., 19:*438-43, 1985.

*Resumo:* A vacina inativada contra gripe trivalente, preparada no Instituto Butantan, contendo 200 unidades hemaglutinantes de cada uma das cepas de vírus Influenza A/SP/1/80 (H3N2), A/SP/1/78 (H1N1) e B/England/847/73, foi administrada em 110 voluntários humanos adultos, sendo que 62 receberam uma dose de vacina e 48 duas doses, com intervalo de 21 dias. A resposta de anticorpos específicos para influenza foi analisada comparativamente pelos testes de Inibição da Hemaglutinação (IH) e Hemólise Radial Simples (HRS). Ocorreu aumento significativo do teor de anticorpos nos indivíduos vacinados, correspondente a um aumento de 4 vezes ou mais nos títulos obtidos pelo teste IH e a um aumento de 3,0 mm ou maior no diâmetro das zonas de hemólise pelo teste HRS. Os métodos demonstraram correlação satisfatória entre si.

*Abstract:* The inactivated vaccine anti-influenza virus, prepared at the Butantan Institute, containing 200 U.H. from each one these virus strains, Infuenza A/SP/1/80 ($H_3N_2$), A/SP/1/78 ($H_1N_1$), B/England/847/73, was administered to 110 human volunteers in one and two doses to 62 and 48 persons respectively, with an interval of 21 days between these doses. The response to specific antibodies to influenza was analysed comparatively by the Methods of Haemagglutination-Inhibition (HI) and Single-Radial-Haemolysis (SRH). These methods demonstrated a correlation between themselves, with a percentual correspondence in the negative HI titres, ≤ 1:20 and diameter of haemolysis < 3.0 mm. Correlation between the haemolysis zone of 3.5-5.0 mm diameter with HI titres of 1:40-1:80 was observed and titres of 1:160-1:320 by HI test were equal to haemolysis zones of 5.5 mm in diameter by SRH test. Very high HI titres ≥ 1:640, corresponded to haemolysis zones ≥ 7.5 mm in diameter. Soroconversion rate occurred those vaccinated, which corresponded to an increase of 4 times or more in the antibody titres obtained from the HI test and an increase of 3.0 mm or more in the haemolysis zone diameter.

52. MANDELBAUM, F.R.; ASSAKURA, M.T.; REICHL, A.P.
Characterization of two hemorrhagic factors isolated from the venom of *Bothrops neuwiedi* (jararaca pintada).
*Toxicon, 22*(2):193-206, 1984.

*Abstract:* Two hemorrhagic factors were isolated from the venom of *Bothrops neuwiedi* (jararaca pintada) by ammonium sulfate precipitation followed by chromatography on DEAE-Sephadex A-50 and DEAE-cellulose DE-32, gel filtration on Sephadex G-100 and polyacrylamide-gel electrophoresis. These factors were named *neuwiedi* hemorrhagic factors $NHF_a$ and $NHF_b$. They are acidic proteins of pI 4.2–4.3 and consist of single polypeptide chains of molecular weights 46,000 and 58,000 respectively, as determined by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide-gel electrophoresis. The hemorrhagic activity of $NHF_b$ is 23 times stronger than that of $NHF_a$. Both hydrolyse casein, although $NHF_a$ is about 20 times more active than $NHF_b$. They are metalloproteins inhibited by EDTA and 1,10-phenanthroline. $NHF_a$ and $NHF_b$ are serologically closely related antigens. These two factors are recognized as identical antigens by horse serum against crude *Bothrops neuwiedi* venom. However, the rabbit specific antiserum was able to differentiate $NHF_a$ from $NHF_b$ showing, neverthless, that they have common determinants apart from specific determinants for each one.

*Resumo:* Do veneno de *Bothrops neuwiedi* (jararaca pintada) foram isolados dois fatores hemorrágicos por precipitação com sulfato de amônio, cromatografias em DEAE-Sephadex A-50 e DEAE-celulose DE-32, gel filtração em Sephadex G-100 e eletroforese em gel de poliacrilamida. Esses fatores foram denominados $NHF_a$ e $NHF_b$. São proteínas ácidas de pI 4,2-4,3 e consistem de cadeias polipeptídicas únicas com pesos moleculares de 46.000 e 58.000, respectivamente, determinados por eletroforese em SDS-gel de poliacrilamida. A atividade hemorrágica do $NHF_b$ é cerca de 23 vezes maior que a do $NHF_a$. Ambos hidrolisam a caseína, sendo $NHF_a$ cerca de 20 vezes mais ativo que $NHF_b$. Esses fatores são metaloproteínas, inibidas por EDTA e 1,10 fenantrolina. $NHF_a$ e $NHF_b$ são antígenos sorologicamente relacionados. Estes dois fatores são reconhecidos como antígenos idênticos por soro eqüino contra veneno de *Bothrops neuwiedi*. Entretanto, o anti-soro específico de coelho foi capaz de diferenciar $NHF_a$ do $NHF_b$, mostrando que eles possuem determinantes comuns, além de determinantes específicos para cada um deles.

53. MANDELBAUM, F.R.; REICHL, A.P; ASSAKURA, M.T.
Isolation and characterization of a proteolytic enzyme from the venom of the snake *Bothrops jararaca* (jararaca).
*Toxicon, 20*(6): 955-72, 1982.

*Abstract:* Bothropasin, one of the proteases from the venom of Bothrops jararaca active on casein was isolated by ammonioum sulfate precipitation, DEAE-cellulose and DEAE-Sephadex A-50

chromatographies and Sephadex G-100 column filtration. The preparation possessed no other detectable activities which are present in the crude venom. Addition of $Ca^{2+}$ during purification stabilized the enzyme. The endopeptidase was inhibited by EDTA and EGTA; $Ca_{2+}$ did not restore the activity of the inhibited enzyme. The material was homogeneous by polyacrylamide gel electrophoresis at different pH values, immunoprecipitation and crossed immunoeletrophoresis. By SDS-polyacrylamide gel electrophoresis the denatured and reduced enzyme had only a 48,000 molecular weight band. In the presence of 6 M guanidine-HC1 and 0.1 M β-mercaptoethanol the preparation showed a value of 49,870 by sedimentation equilibrium. The native tertiary structure of the protein is dependent on S-S and metal bonds. The denatured and reduced enzyme, in the presence of EDTA, showed a molecular weight of 37,300 by sedimentation equilibrium, a value which was also confirmed in SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. The enzyme hydrolyzed five peptide bonds: His-Leu (5-6), His-Leu(10-11), Alan-Leu (14-15), Tyr-Leu(16-17) and Phe-Phe(24-25) in the B-chaim of oxidized insulin.

*Resumo*: Bothropasina, uma das proteases do veneno de *Bothrops jararaca* ativa sobre a caseína, foi isolada por precipitação com sulfato de amônio, cromatografias em DEAE-celulose e DEAE-Sephadex A-50 e filtração em Sephadex G-100. A preparação apresentou-se livre de outras atividades presentes no veneno bruto. Para estabilizar a enzima, foi adicionado $Ca^{2+}$ durante a sua purificação. A endopeptidase é inibida por EDTA e EGTA. Adição de $Ca^{2+}$ não restaura a atividade da enzima inibida. O material apresentou-se homogêneo por eletroforese em gel de poliacrilamida em diferentes pHs, imunoprecipitação e imunoeletroforese cruzada. Por eletroforese em SDS-gel de poliacrilamida, a enzima desnaturada e reduzida apresentou uma única banda de peso molecular 48.000. Na presença de 6 M de guanidina-HC1 e 0,1 M de 2-mercaptoetanol, a preparação apresentou, por equilíbrio de sedimentação, um peso molecular de 49.870. A estrutura terciária nativa da proteína é dependente de ligações S-S e metálicas. A enzima desnaturada e reduzida, na presença de EDTA, mostrou por equilíbrio de sedimentação um peso molecular de 37.300, valor esse confirmado por eletroforese em SDS-gel de poliacrilamida. A enzima hidrolisou cinco ligações peptídicas na cadeia B da insulina oxidada: His-Leu (5-6); His-Leu (10-11); Ala-Leu (14-15); Tyr-Leu (16-17) e Phe-Phe (24-25).

54. MANDELBAUM, F.R.; REICHL, A.P.; ASSAKURA, M.T.
Isolation and properties of bothropasin from the venom of *Bothrops jararaca*.
*Toxicon, 17* (suppl.1): 114, 1979.

*Abstract*: Five protein zones active on casein were detected when crude venom of *Bothrops jararaca* was submitted to polyacrylamide gel electrophoresis. Bothropasin, one of these proteolytic enzymes, was isolated by ammonium sulfate precipitation, DEAE-cellulose and DEAE-Sephadex A-50 chromatographies and Sephadex G-100 column filtration. Addition of $Ca^{2+}$ along the several steps of its purifications contributed to stabilize the enzyme. The preparation contained 10% of the total proteolytic activity present in the crude venom measured on casein. The caseinase activity of Bothropasin was twice enhanced in presence of $Ca^{2+}$ and, as a metallo-endopeptidase, was inhibited by exposure to 1:10 phenantroline, EDTA or EGTA; however, the activity was not restored by addition of $Ca^{2+}$ ions. The preparation possessed no detectable other activities present in the original venom.

The preparation was homogeneous as judged by polyacrylamide gel electrophoresis at different pHs, immunoprecipitation and crossed immunoeletrophoresis. By SDS-polyacrylamide gel electrophoresis the denatured and reduced enzyme gave only one band of molecular weight of 48,000.

By ultracentrifugal analyses, however, the purified Bothropasin preparation in presence of $Ca^{2+}$ ions or EDTA was heterogeneous and presented always higher molecular weights than the value obtained by SDS-gel electrophoresis. In presence of 6M guanidine hydrochloride and 0.1M β-mercaptoethanol the preparation showed to be homogeneous giving a value of 49,600 by sedimentation equilibrium, but in presence of EDTA the denatured and reduced enzyme presented a molecular weight of 37,000. Also in presence of EDTA when Bothropasin ws denatured by SDS and reduced by β-mercaptoethanol three components of 38,000, 20,000 and 9,000 were separated by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. This implies that the native tertiary structure of the molecule is dependent on S-S and metal ion bonds.

The proteolytic enzyme, Bothropasin split the oxidezed B chain of insulin at the following five peptide bonds: —His-Leu- (5-6), —His-Leu- (10-11) —Ala-Leu- (14-15), —Tyr-Leu-(16-17) and —Phe-Phe- (24-25).

*Resumo*: Cinco bandas protéicas com atividade sobre a caseína foram detectadas quando o veneno de *Bothrops jararaca* foi submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida. Bothropasina, uma destas enzimas proteolíticas, foi isolada por precipitação com sulfato de amônio, cromatografias em DEAE-celulose e DEAE-Sephadex A-50 e filtração em Sephadex G-100. Nas diversas etapas da purificação a adição de $Ca^{2+}$ contribuiu para estabilizar a enzima. Esta preparação continha 10% da totalidade da atividade caseinásica do veneno bruto.

A atividade caseinásica da bothropasina aumenta 100% na presença de $Ca^{2+}$. Ela é inibida por 1-10 fenantrolina, EDTA ou EGTA mostrando ser uma metaloendopeptidase; entretanto essa atividade não é restaurada pela adição de íons $Ca^{2+}$. Nessa preparação não foram detectadas outras atividades presentes no veneno bruto. A preparação mostrou ser homogênea por eletroforese em gel de poliacrilamida em diversos pHs, imunoprecipitação e imunoeletroforese cruzada. A enzima desnaturada e reduzida apresentou, por eletroforese em SDS-gel de poliacrilamida, uma única banda de peso molecular 48.000.

Na presença de $Ca^{2+}$ ou de EDTA, a bothropasina purificada mostrou-se entretanto heterogênea nas análises de ultracentrifugação, apresentando valores de pesos moleculares sempre superiores ao valor obtido por eletroforese em SDS-gel de poliacrilamida. Na presença de guanidina-HC1 6M e 2-mercaptoetanol 0,1 M, a preparação apresentou-se homogênea por equilíbrio de sedimentação com peso molecular de 49.600; essa mesma enzima desnaturada e reduzida após tratamento com EDTA apresentou peso molecular de 37.000.

Por eletroforese em SDS-gel de poliacrilamida a bothropasina, após tratamento por EDTA, desnaturação por SDS e redução por 2-mercaptoetanol, apresentou três componentes com os seguintes pesos moleculares: 38.000, 20.000 e 9.000. Esses resultados sugerem que a estrutura terciária nativa da molécula é dependente de ligação S-S e íons metálicos.

A enzima proteolítica bothropasina rompe na cadeia B da insulina oxidada cinco ligações peptídicas: -His-Leu- (5-6); -His-Leu- (10-11); -Ala-Leu- (14-15); -Tyr-Leu- (16-17) e -Phe-Phe-(24-25).

55. MAUL, G.G.; DEAVEN, L.L.; FREED, J.J.; CAMPBELL, G.Le M.; BEÇAK, W.
Investigation of the determinants of nuclear pore number.
*Cytogenet. Cell Genet.*, *26*:175-90, 1980.

*Abstract*: To asses the functional significance of nuclear pore complexes, we have investigated whether the number of pores per nucleus is determined by such factors as the nuclear volume, nuclear surface area, DNA content, or aspects of nuclear activity. Comparisons were made between cell types chosen to permit observation of differences in nuclear pore number as a function of differences in the other qualities measured. The number of nuclear pores was determined by freeze-etching and measurements of nuclear surface and nuclear volume by electron and light microscopy.

Pairs of cell strains in culture that contained different numbers of chromosome sets were investigated to examine the relation of pore number to total DNA content. Tetraploid cells of the rat kangaroo (Potorous tridactylus) have almost exactly twice the number of pores found in the parental diploid strain. However, the pore number in diploid grassfrog (Rana pipiens) cells was only 65% greater than in the parental haploid cell. In addition, e polyploid series of nucleated RBC had a 62% pore number increase with each successive increase in ploidy.

Diploid cell strains from the canyon mouse (Peromyscys crinitus) and from the cactus mouse (P. eremicus) were compared to test whether a difference reflecting the 36% additional DNA in cells of the latter, associated with extra heterochromatin, existed. Although both were found to have the same number of pores and nuclear surfece area, the cells differed in nuclear volume.

These observations suggest that the number of nuclear pores is independent of the total amount of nuclear DNA, the nuclear surface area (and, thus, presumably the fraction of DNA that is bound to the nuclear membrane), the nuclear volume, and the size of the genome. Rather, the number of nuclear pores eppeers to be essociated with some aspect of nuclear metabolic activity, e.g., transcriptional capecity or release of products to the cytoplasm.

Further evidence for such a view comes from studies of chick embryo erythroblasts. In these, nuclear pore number was found to be lower in association with the decreasing nuclear transcriptional activity and longer generation times that characterize the successive cell divisions leading to the fully differentiated state. The number of pore complexes reconstructed in the last cell cycles declined in a manner consistent with reutilization of previously formed pores in the absence of new pore synthesis. Challenging this interpretetion is the increase in pore number at lower metabolic activity when Xenopus laevis cells are grown at different temperatures. The speculation that pore complexes have e longer half-life in cooler grown Xenopus cells could resolve the discrepancy.

*Resumo*: A fim de determinar a significação dos complexos de poros nucleares, nós investigamos se o número de poros por núcleo é determinado por fatores como volume nuclear, área da superfície nuclear, conteúdo de DNA ou aspectos da atividade nuclear. Comparações foram feites entre tipos celulares escolhidos para permitir observação de diferenças em número de poros nucleares, em função de diferenças em outras qualidades medidas. O número de poros nucleares foi determinedo pela técnica de "freeze etching" e as medidas da superfície nuclear e volume nuclear por microscopia óptica e eletrônica.

Pares de linhagens celulares em cultura que apresentam diferentes números de lotes cromossômicos foram investigados, para examinar a relação entre o número de poros e o total do conteúdo de DNA. Células tetraplóides do roedor (*Potorus tridactylus*) apresentaram cerca do dobro do número de poros encontrados na linhagem diplóide parental. Porém, o número de poros nas células da rã (*Rana pipiens*) foi somente 65% maior que nas células haplóides parentais. Além disso, uma série poliplóide de RBC nucleados mostrou um aumento de 62% do número de poros com cada aumento de ploidia.

Linhagens de células diplóides do camundongo (*Peromyscus crinitus*) e do camundongo (*P.eremicus*) foram comparadas a fim de testar se havia diferença em decorrência dos 36% do DNA adicional associado a heterocromatina extra, nas células do último. Apesar de que em ambos foi observado o mesmo número de poros nucleares e de área de superfície nuclear, as células diferiam no volume nuclear.

Essas observações sugerem que o número de poros nucleares independe do conteúdo total de DNA nuclear, da área de superfície nuclear (e assim, presumivelmente da fração de DNA que está ligada á membrana nuclear), do volume nuclear e do tamanho do genoma. Parece que o número de poros nucleares está associado com algum aspecto da atividade metabólica nuclear, como por exemplo, capacidade transcricional ou liberação de produtos para o citoplasma.

Uma outra evidência favorecendo esse ponto de vista provém dos estudos de eritroblastos de embrião de galinha. Nestes, o número de poros nucleares é menor em associação com o decréscimo da atividade transcricional e tempos de geração mais longos, que caracterizam as sucessivas divisões celulares, levando ao estado de diferenciação completa. O número de complexos de poros reconstruído nos últimos ciclos celulares declinou, de forma consistente com a reutilização de poros previamente formados, na ausência de síntese de novos poros. Desafiando essa interpretação está o aumento do número de poros em atividade metabólica menor, quando as células de *Xenopus laevis* são cultivadas em temperaturas diferentes. A especulação de que complexos de poros têm uma meia vida mais longa em células de *Xenopus* cultivadas em temperatura mais baixa pode resolver essa discrepância.

56. MENDES, I.F.; PRAL, M.M.; MIYAKI, C.; GALLINA, N.M.F.; PETRICEVICH, V.L.; FANG, F.L.W.; TUCHIYA, H.N.; NINOMYA, T.; RIZZO, E. de.
Avaliação das condições de estocagem de vacinas vivas, atenuadas contra o sarampo, em postos de vacinação credenciados e em centros de saúde do Estado de São Paulo (Brasil).
*Rev. Saúde públ.*, *19*:444-9, 1985.

*Resumo*: Para avaliar as condições de estocagem de vacinas vivas, atenuadas contra o sarampo, da rede de vacinação do Estado de São Paulo (Brasil), foram visitados 71 Postos de Vacinação Credenciados particulares (PVC), assim como 117 Centros de Saúde oficiais (CS), sobre os quais interessava saber a respeito da qualidade da estocagem a frio. Os parâmetros adotados foram: a) temperatura das geladeiras de uso (+ 2 a + 8°C) e de estoque (≤ + 8°C); b) validade do produto; c) título das vacinas conservadas nestas geladeiras, avaliado pela inoculação de diluições das amostras de vacinas em células Vero; d) proteção à luz. Dos CS pesquisados, 85,33% apresentaram geladeiras com temperatura de acordo com a recomendada e 100% das vacinas neles estocadas com título e validade satisfatórios. Nos PVC foram encontrados, com maior freqüência, lotes de vacina fora do prazo de validade (14,49%), com títulos abaixo do mínimo requerido (3,53%) e geladeiras de uso e de estoque com temperaturas inadequadas (33,80%). Necessário se faz que as condições de estocagem das vacinas contra o sarampo (temperatura e proteção à luz), prevalentes no momento, sejam melhoradas e que as bulas passem a acompanhar o produto a eles entregue, para que os responsáveis pela vacinação obedeçam as recomendações do laboratório produtor com relação às condições de estocagem, validade e administração do imunobiológico, uma vez que a pesquisa revelou que estas não são observadas com o rigor necessário.

*Abstract*: In the State of S. Paulo, Brazil, health centers sponsored by the State, as well as private health services, located in throught large districts, are in charge of the vaccination against the various diseases affecting children, including measles. In the present study three of the above mentioned districts, covering 385 State Health Centers (SHC) and 200 Private Health Services (PHS) were surveyed. From these totals 117 SHC and 71 PHS were chosen for the evaluation of: a) quality of the existing cold chain for measles vaccine storage (temperature); b) vaccine titer; c) validity; d) protection from light. Of the SHC inspeted, 85,33% kept vaccines at the recommended temperature, 100% presented vaccines with titers above the minimum required and within expiration date. Deficiency relating to protection from light, was found in 83.06%. Inspection of the PHS revealed that whereas 66.20% kept vaccine within the right temperature range, 76.06% did not protect them against light, only 96.47% had vaccines with potency above the level required and only 85.51%, observed the expiration date. The study led to the conclusion that in the State of S. Paulo, measles vaccines are better stored in the State Health Centers than in the Private Health Services surveyed indicating that the slight preference that parents show towards having their children vaccinated in PHS is not justified. It was suggested that some conditions of measles vaccine storage mostly, temperature and protection from light should be improved and that instruction leaflets must always accompany immunobiological materials distributed to all health centers, to be consulted when doubts about the proper storage and administration of these vaccines arise.

57. MENDES, I.F.; PRAL, E.M.F.; TAKATA, C.S.; RIZZO, E. de; SAITO, T.
Estudo comparativo de meios de cultura recomendados para testes de esterilidade de produtos biológicos.
*Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo*, *21*(1):62-70, 1985.

*Resumo*: A sensibilidade do caldo de caseína-soja foi comparada á dos meios líquidos de tioglicolato e Sabouraud, usualmente recomendados para testes de esterilidade de produtos biológicos. Os resultados demonstraram que o caldo de caseína-soja foi tão efetivo quanto o tioglicolato líquido na detecção de bactérias aeróbicas. Com relação aos bolores e leveduras, o caldo de caseína-soja apresentou a mesma eficiência do meio de Sabouraud líquido. O caldo de caseína-soja, usado em paralelo aos meios tioglicolato e Sabouraud, proporciona maior confiabilidade aos testes de esterilidade de meios de cultura usados em cultura celular, vacinas virais e de imunológicos em geral.

*Abstract*: The sensitivity of soybean-casein digest broth was compared with those of thioglycollate and Sabouraud broths, usually recommended for sterility tests of biologics. The results showed that, to detect aerobic bacteria, the soybean-casein digest broth was as efficient as the thioglycollate broth. Relating to moulds and yeasts, the soybean-casein digest medium, presented the same efficiency of Sabouraud broth. This medium, when used in comparison with thioglycollate and Sabouraud media, gives more reliable results in sterility tests of culture media used in cell cultures, viral vaccines and immunobiologics in general.

58. MILSTEIN-MOSCATI, I. & BEÇAK, W.
Down syndrome and frequency of intercourse.
*Lancet, 2*:629-30, 1978.

*Abstract*: Our preliminary results in a prospective study of association between human sexual behaviour and incidence of Down syndrome suggest that an increased incidence of Down syndrome is associated with long periods without intercourse. We asked 24 mothers of children with Down syndrome and 71 mothers of normal children about their sexual behaviour. The fathers were also interviewed as a confirmation and an additional control. Down syndrome affected children were clinically diagnosed. 11 of them had been karyotyped: 9 had trisomy 21, 1 had a D/G translocation, and 1 had a G/G translocation.
The age of the affected children ranged from newborn to one year old with a mean of four months. The mothers ranged in age from 17 to 43 years (mean 29.5) and the fathers 24-48 (mean 34.5). In analysing the sexual behaviour of the mothers we divided the two groups in two, by age under or over 35. Infrequent intercourse during the period of conception was more common for mothers of Down syndrome than for controls and this association seems to be independent of the mother's age.

*Resumo*: Nossos resultados preliminares em um estudo prospectivo de associação entre comportamento sexual humano e incidência de síndrome de Down, sugere que uma incidência aumentada de síndrome de Down está associada com períodos longos sem relações sexuais. Nós perguntamos a 24 mães de crianças com síndrome de Down e 71 mães de crianças normais sobre seu comportamento sexual. Os pais também eram entrevistados como confirmação e controle adicional. As crianças com síndrome de Down foram diagnosticadas clinicamente. 11 delas foram cariotipadas: 9 tinham trissomia 21, uma apresentava translocação D/G e uma translocação G/G.
A idade das crianças afetadas variou de recém-nascidos a um ano de idade, com média de 4 meses. As mães variaram em idade de 17 a 43 anos (média 29,5) e os pais de 24 a 48 anos (média 34,5). Analisando o comportamento sexual das mães, nós dividimos os dois grupos em dois, por idade, abaixo e acima de 35. Relações pouco freqüentes durante o período de concepção foram mais comuns para mães de crianças com síndrome de Down do que para controles e essa associação parece ser independente da idade materna.

59. MILSTEIN-MOSCATI, I. & BEÇAK, W.
Occurrence of Down syndrome and human sexual behavior.
*Am. J. Med. Genet., 14*:785-6, 1983.

*Abstract*: We found that, independent of the mother's age, there is an association of birth of Down syndrome children with long intervals between intercourse around the time of conception as related by the mothers. Our results do not imply necessarily that an increased intercourse interval causes Down syndrome. They may reflect a common cause for both observed facts (Milstein-Moscati and Beçak, 1981). These results agree with the suggestions of many workers in the field that more attention should be given to the nondisjunction process independent of the mother's age (Mattei et al. 1980; Jongbloet et al. 1981). The method used in our study was a carefully prepared psychological interview quite different from an anamnesis questionnaire or ordinary interview.
It is also important to point out in our work we were not dealing with estimates of frequencies of intercourse, but with intervals between coitus reported by the mother at the time of conception.

*Resumo*: Nós verificamos que, independente da idade materna, existe uma associação de nascimento de crianças com síndrome de Down, com intervalos longos entre as relações sexuais, ao redor do tempo da concepção, relatado pelas mães. Nossos resultados não implicam necessariamente que um intervalo aumentado entre as relações sexuais cause síndrome de Down. Eles podem refletir uma causa comum para ambos os fatos observados (Milstein-Moscati e Beçak, 1981). Esses resultados estão de acordo com as sugestões de muitos autores de que mais atenção deva ser dada ao processo de não-disjunção, independente de idade da mãe (Mattei et al., 1980, Jongbloet et al., 1981). O método usado em nosso estudo foi o de entrevista psicológica cuidadosamente preparada, bem diferente de um questionário de anamnese ou entrevista comum.
Também é importante apontar em nosso trabalho que não estamos tratando com estimativa de freqüência de relações sexuais, mas com intervalos entre coitos relatados pela mãe, ao tempo da concepção.

60. MILSTEIN-MOSCATI, I. & BEÇAK, W.
Occurrence of Down syndrome and human sexual behavior.
*Am. J. Med. Genet., 9*:211-7, 1981.

*Abstract*: We analyzed the sexual habits of 80 mothers of normal children and of 33 mothers of children with the Down syndrome (DS). The data were obtained through the psychological interview technique. Unusually long intervals between intercourse at the time of conception were reported more frequently by mothers of DS children. Independent of the mother's age there was an association between the incidence of DS and long intervals between intercourse.

*Resumo*: Nós analisamos os hábitos sexuais de 80 mães de crianças normais e de 33 mães de crianças com síndrome de Down (DS). Os dados foram obtidos através da técnica de entrevista psicológica. Intervalos longos entre as relações sexuais ao tempo da concepção foram relatados com maior freqüência por mães de crianças com DS. Independente da idade materna verificou-se uma associação entre incidência de DS e intervalos longos entre as relações sexuais.

61. MILSTEIN-MOSCATI, I. & BEÇAK, W.
A síndrome de Down; aspectos etiológicos.
*Rev. bras. Genet.*, *3*(1):53-78, 1980.

*Resumo*: Trabalho de revisão que aborda aspectos referentes à etiologia do mongolismo e analisa, principalmente, os fatores que levam à não-adjunção cromossômica nos pais, enfatizando a defasagem entre ovulação e fecundação, bem como a distribuição sazonal da síndrome de Down.

*Abstract*: A review of factors related to the etiology of mongolism. Special emphasis is given to parental non-disjunction as caused by delayed fertilization as well as to seasonal distribution of Down syndrome.

62. MORAES, R.H.P.; ALI, A.R.; VEIGA, R.M.O.
Criação intensiva de *Pomacea* sp (Mollusca-*Pilidae* Conolly, 1927) ( = Ampullariidae Gray, 1824).
*Rev. Biotérios*, *1*:45-50, 1981.

*Resumo*: Com o objetivo de obter grande número de caramujos para observações de controle biológico, as pomàceas estão sendo criadas em caixas de cimento amianto e alimentadas com fatias de berinjela, alimento a que deram especial preferência, à temperatura de 30°C ± 2°C que se mostrou muito propícia.

*Abstract*: Intensive breeding of the pilid Pomacea is possible in water averaging 30°C ± 2°C and pH between 6 and 8.
The prefered food was eggplant, cut in slices, which float.
Comments on predators, including man, are made.

63. MORAES, R.H.P.; TRAVASSOS FILHO, L.P.; SOERENSEN, B.; FARINHA, F.B.
Presença de *Listrophorus gibbus pagenstecher*, 1861 (Acarina-Listrophoridae), em criação de coelhos.
*Rev. latino-americ. Cunicult.*, *1*:49-52, 1980.

*Resumo*: Foi estudado o comportamento de *Listrophorus gibbus* em duas criações totalizando aproximadamente 45.000 coelhos. Após provocarem intenso prurido nos animais e nos tratadores, os ácaros desapareceram espontaneamente em 20 dias. Embora sem ter causado prejuízo às criações estudadas, trouxe, entretanto, grande preocupação até a verificação de serem ácaros de vida livre, não-parasitas, desaparecendo espontaneamente, supondo ser uma eventual foresia.

*Abstract*: The behaviour of *Listrophorus gibbus* was studied in two breeding of approximately 45.000 rabbits. After provocking an intense itching in the animals and care-keepers the acarid had spontaneously disapeared en 20 days. In despite of not causing damage to the breeding studied, it brought great apprehension until it was verified that the acarids were of free life, non parasitic, and therefore disapeared spontaneously.

64. MORAES, R.H.P. & VEIGA, R.M.O.
Comportamento de *Pomacea* sp (Mesogastropoda-*Pilidae*), em biotério de caramujos.
*Rev. Biotérios*, *1*:13-24, 1981.

*Resumo:* Lotes de moluscos do gênero *Pomacea*, de origens distintas (Manaus - AM, Careiro - AM e Jundiaí - SP), foram observados por um período de 334 dias, durante os quais se compararam as respectivas taxas de desenvolvimento bem como oviposições, eclosões e períodos embrionários.
Os resultados, expressos em gràfico e tabelas, evidenciaram ser a população oriunda de Careiro (rio Solimões) a mais adaptàvel às condições de laboratório em que os trabalhos foram conduzidos.

*Abstract*: Three lots of molluscs of the genus *Pomacea* from three different origins (Manaus - AM, Careiro - AM and Jundiaí - SP) were observed under laboratory conditions, for a period of 334 days during wich the respective rates of growth were compared and observations made on egg laying, hatching and embrionary periods.
The data are expressed in tables and graphic showing that the population from Careiro (Solimões river) was the most adaptable to the laboratory conditions.

65. MOTA, I.
IgG subclasses in animal species.
*Monogr. Allergy*, *19*:302-12, 1986.

*Abstract:* In this paper it is discussed the recent knowledge on the phylogenetic evolution, immunochemistry and biological properties of the IgG subclasses in different animal species.

*Resumo:* Neste trabalho aborda-se os conhecimentos existentes sobre a evolução filogenética, a imunoquímica e as propriedades biológicas das subclasses da IgG em diferentes espécies animais.

66. MURPHEY, R.M.; BEÇAK, W.; MORAES, A.E.D. de
Escape efficiency of diploid and polyploid frogs; a comparison of *Odontophrynus cultripes*

(2n = 22) and *O. americanus* (4n = 44).
*Behavior Genetics, 11*(3):255-65, 1981

*Abstract:* The escape efficiency of two closely related species of frogs, Odontophrynus cultripes (2n = 22) and the tetraploid *O. americanus* (4n = 44), were compared in a shuttle box and under simulated naturalistic conditions. *O. americanus* was generally superior to *O. cultripes*, and females tended to outperform males within both species. The relative inefficiency of *O. cultripes* escape behavior was examined in light of the animals having an elaborate, passive defense mechanism in the form of wellmarked venom glands. Escape efficiency was highlv variable in both species. Possessing twice the amount of DNA, the tetraploid behavioral variation was paradoxically less than that of the diploid, but compatible with what has been found for morphological characters in other organisms.

*Resumo:* A eficiência para escapar de duas espécies próximas de anfíbios, *Odontophrynus cultripes* (2n = 22) e *Odontophrynus americanus* (2n = 44), foram comparadas, utilizando-se uma caixa simulando condições naturais. *O. americanus* mostrou-se em geral superior a *O. cultripes*, tendendo as fêmeas a superar os machos, nas duas espécies. A ineficiência relativa do comportamento de escape de *O. cultripes* foi examinada à luz do fato desses animais terem um mecanismo elaborado de defesa passivo, sob forma de glândulas de veneno bem desenvolvidas. A eficiência de escape mostrou-se altamente variável em ambas as espécies. A variação de comportamento do tetraplóide, que possui o dobro de DNA, foi paradoxalmente menor que a do diplóide, mas compatível com a que tem sido encontrada para caracteres morfológicos em outros organismos.

67. NAHAS, L.; KAMIGUTI, A.S.; BARROS, M.A.R.
Thrombin-like and factor X-activator components of *Bothrops* snake venoms.
*Thromb. Haemost., 41* (2):314-28, 1979.

*Abstract:* A comparative study on the coagulant activity of snake venoms was carried out in 26 *Bothrops* species, using specific clotting systems for the thrombin-like and the factor X-activator activities. With only two exceptions (*B. erythromelas* and *B. castelnaudi*) all venoms showed thrombin-like activity, since they were able to clot fibrinogen directly. The absence of thrombin-like action of *B. erythromelas* venom is due to a fibrinogenolytic effect. Five venoms (*B. atrox asper, B. bilineatus bilineatus, B. cotiara, B. fonsecai* and *B. itapetiningae*) were unable to produce a prothrombin activator when preincubated with serum, factor V, and phospholipid. None of the venoms seems to require factors VII, VIII, IX, XII and XIII for their complete coagulant action. Direct prothrombin activation was observed in most of the *Bothrops* venoms, alone or combined with thrombin-like and factor X-activator activities.
An anticoagulant activity was exhibited by *B. castelnaudi* venom, probably due to an anti-Xa action. This study points out that the coagulant activity of snake venoms varies within the same genus and must be characterized for each species. Thus, in *Bothrops* venoms the trombin-like and factor X-activator components are not always associated, the coagulant effect may be related only to one of the components.

*Resumo:* Um estudo comparativo sobre a atividade coagulante de venenos de serpente foi feito em 26 espécies de *Bothrops*, usando sistemas de coagulação específicos para atividades tipo trombina e de ativador do fator X. Com somente duas exceções (*B. erythromelas* e *B. castelnaudi*) todos os venenos mostraram atividade tipo trombina, pois foram capazes de coagular o fibrinogênio diretamente. A ausência de ação tipo trombina do veneno de *B. erythromelas* é devida a efeito fibrinogenolítico. Cinco venenos (*B. atrox asper, B. bilineatus bilineatus, B. cotiara, B. fonsecai* e *B. itapetiningae*) foram incapazes de produzir um ativador de protrombina quando pré-incubado com soro, fator V e fosfolipídeo. Nenhum dos venenos parece requerer os fatores VII, VIII, IX, XII e XIII para sua completa ação coagulante. Ativação direta da protrombina foi observada na maioria dos venenos de *Bothrops*, só ou combinado com as atividades tipo trombina ou ativador do fator X.
Uma atividade anticoagulante foi exibida pelo veneno *B. castelnaudi*, provavelmente devida a uma ação anti-Xa. Este estudo indica que a atividade coagulante dos venenos de serpente varia dentro do mesmo gênero e deve ser caracterizado para cada espécie. Portanto, nos venenos de *Bothrops*, os componentes tipo trombina e ativador do fator X não estão sempre associados, o efeito coagulante pode estar relacionado a apenas um dos componentes.

68. NAHAS, L.; KAMIGUTI, A.S.; BETTI, F.; MARTINS, I.S.S.; RODRIGUES, M.I.
Blood coagulation mechanism in the snakes *Waglerophis merremii* and *Bothrops jararaca*.
*Comp. Biochem. Physiol., 69A*:739-43, 1981.

*Abstract:* The blood coagulation mechanism was investigated in the snakes *Bothrops jararaca* and *Waglerophis merremii*, using homologous and heterologous systems to study the clotting function. Whereas the extrinsic pathway was efficient in both species, evidences for the intrinsic activation was found only in *W. merremii* plasma. The results obtained in several tests suggest that at least traces of Hageman factor are present in this plasma, providing the formation of a significant amount of contact product, besides the activation of prekallikrein formed in the same plasma.

*Resumo:* O mecanismo da coagulação foi investigado nas serpentes *Bothrops jararaca* e *Waglerophis merremii*, usando sistemas homólogo e heterólogo de estudo de função da coagulação da coagulação. Enquanto que a via extrínseca foi eficiente em ambas as espécies, evidência para a ativação intrínseca foi encontrada apenas no plasma de *W. merremii*. Os resultados obtidos

em vários testes sugerem que, ao menos, traços de fator Hageman estão presentes no plasma, devido à formação de quantidade significante de produto de contato, além da ativação de precalicreína no mesmo plasma.

69. NAHAS, L.; KAMIGUTI, A.S.; SOUZA e SILVA, M.C.C.; RIBEIRO DE BARROS, M.A.A.; MORENA, P.
The inactivating effect of *Bothrops jararaca* and *Waglerophis merremii* snake plasma on the coagulant activity of various snake venoms.
*Toxicon, 21*(2):239-46, 1983.

*Abstract:* Plasmas of the poisonous snake *Bothrops jararaca* and of the non-poisonous snake *Waglerophis merremii* were not clotted by various snake venoms. These plasmas also inactivated venom clotting activity on human plasma. This effect was absent in snake serum and in heated snake plasma. The active fraction was isolated by gel chromatography from *B. jararaca* plasma and corresponded to the fibrinogen-containing fractions. It is suggested that the inactivation by snake plasma of the venom coagulant activity might be due to a fibrinogen-bound complex or to fibrinogen itself.

*Resumo:* Plasmas da serpente venenosa *Bothrops jararaca* e não venenosa *Waglerophis merremii* não coagularam com vários venenos de serpentes. Estes plasmas também inativaram a atividade coagulante do veneno sobre o plasma humano. Este efeito estava ausente no soro e no plasma aquecido da serpente. A fração ativa foi isolada por cromatografia de gel usando plasma de *B. jararaca* e correspondeu às frações contendo fibrinogênio. É sugerido que a inativação da atividade coagulante do veneno pelo plasma da serpente deva ser devida a um complexo ligado ao fibrinogênio ou ao fibrinogênio por si só.

70. OHANIAN, H.; BORHANIAN, K.; FARIA, S. de; BENNUN, A.
A model for the regulation of brain adenylate cyclase by ionic equilibria.
*J. Bioenerg. Biomembr., 13*(5/6):317-55, 1981.

*Abstract:* Multiple-equilibrium equations were solved to investigate the individual and separate effects of $Mg^{2+}$, $Mn^{2+}$, $Ca^{2+}$, $ATP^{4-}$, and their complexes on the kinetics of brain adenylate cyclase. The effects of divalent metals and/or $ATP^{4-}$ (in excess of their participation in complex formation) were determined and, from the corresponding apparent affinity values, the following kinetic constants were obtained: $k_m$(MgATP) = 1.0 mM, $K_i(ATP^{4-})$ = 0.27 mM, $K_m$(MnATP) = 0.07 mM, and $K_i$(CaATP) = 0.015 mM. MgATP, MnATP, $ATP^{4-}$, and CaATP were shown to compete for the active site of the enzyme. Hence, it is proposed that endogenous metabolites with a strong ligand activity for divalent metals, such as citrate and some amino acids, become integrated into a metabolite feedback control of the enzyme through the release of $ATP^{4-}$ from MgATP. $Ca^{2+}$ fluxes may participate in the endogenous regulation of adenylate cyclase by modifying the level of CaATP. The free divalent metals show an order of affinity $K_{0.5}(Ca^{2+})$ = 0.02 mM, $K_{0.5}(Mn^{2+})$ = 3.8 mM, $K_{0.5}(Mg^{2+})$ = 4.7 mM, and an order of activity $Mn^{2+} > Mg^{2+} > Ca^{2+}$. The data indicate that $Mn^{2+}$ and $Mg^{2+}$ ions may compete for a regulatory site distinct from the active site and increase *Vm* without changing $K_m$(MgATP), *Km*(MnATP), or $K_i(ATP^{4-})$. The interactions of $ATP^{4-}$ and CaATP, which act as competitive inhibitors of the reaction of the enzyme with the substrates MgATP and MnATP, and $Mg^{2+}$ and $Mn^{2+}$, which act as activators of the enzyme in the absence of hormones, are shown to follow the random rapid equilibrium BiBi group-transfer mechanism of Cleland with the stipulation that neither $Mg^{2+}$ nor $Mn^{2+}$, in excess of their respective participation in substrate formation, are obligatorily required for basal activity. $ATP^{4-}$ and CaATP are involved in dead-end inhibition. For $MgCl_2$ saturation curves at constant total ATP concentration, the computer-generated curves based on the RARE BiBi model predict a change in the Hill cooperativity *h* from a basal value of 2.6, when $Mg^{2+}$ is not obligatorily required, to 4.0 when the addition of hormones or neurotransmitters induces an obligatory requirement for $Mg^{2+}$

*Resumo:* Equações de equilíbrio múltiplo foram resolvidas investigando os efeitos individuais e separados do $Mg^{2+}$, $Mn^{2+}$, $ATP^{4-}$ e seus complexos na cinética de adenilciclose de cérebro. Os efeitos dos metais bivalentes e ou $ATP^{4-}$ (participado em excesso, na formação do complexo) foram determinados e, a partir dos valores correspondentes das afinidades aparentes, as seguintes constantes cinéticas foram obtidas: Km (Mg ATP) 10 mm, Ki ($ATP^{4-}$) = 0,27 mM, Km (Mn ATP) = 0,07 mM, e Ki (Ca ATP) = 0,15 mM. Os complexos MgATP, Mn ATP, Ca ATP e o $ATP^{4-}$ mostraram ser competitivos pelo sítio ativo da enzima. Por essa razão, é proposto que os metabolilitos endógenos com uma forte atividade ligante por metais divalentes, tais como o citrato e alguns aminoácidos, tornam-se integrados dentro do controle metabólito da enzima por feedback através da liberação de $ATP^{4-}$ do complexo MG ATP. O fluxo de cálcio pode participar na regulação endógena da adenilciclose através da modificação do nível de Ca ATP.
Os metais divalentes livres mostraram uma ordem de afinidade de K 0,5 ($Ca^{2+}$) = 0,02 mM, K 0,5 ($Mn^{2+}$) = 3,8 mM, K 0,5 ($Mg^{2+}$) = 4,7 mM e numa ordem de atividade $Mn^{2+}$ $Mg^{2+}$ $Ca^{2+}$. Os dados indicam que os íons $Mn^{2+}$ e $Mg^{2+}$ podem competir por um sítio regulatório, diferente do sítio ativo, e aumentar a um sem mudança do Km (Mg ATP), Km (Mn ATP) ou Ki ($ATP^{4-}$). As interações de $ATP^{4-}$ e Ca ATP, os quais agem como inibidores competitivos da reação da enzima com os substratos Mg ATP e Mn ATP, e $Mg^{2+}$ e $Mn^{2+}$, os quais agem como ativadores da enzima na ausência de hormônios, são mostradas a seguir o mecanismo BiBi aleatório em equilíbrio rápido para transferência de grupo segundo Cleland com a estipulação de que nem $Mg^{2+}$, nem $Mn^{2+}$, em excesso na participação da função do substrato, são obrigatoriamente requeridos para

a atividade basal. $ATP^{4-}$ e Ca ATP estão envolvidos em uma inibição de tipo "dead-end". Para as curvas de saturação do Mg $Cl_2$ em concentração de ATP total e constante, curvas geradas por computador baseadas no modelo RARE Bibi, prognosticou uma mudança no valor do coeficiente de Hill(h), a partir de seu valor basal de 2,6, quando $Mg^{2+}$ não é obrigatoriamente requerido e para 4,0 quando a adição de hormônio ou neurotransmissores induzem um requerimento obrigatório por $Mg^{2+}$.

71. OLIVEIRA, E.P.T. de; HIGASHI, H.G.; IIZUKA, H.
Algumas modificações na técnica de titulação das toxinas e anatoxinas tetânicas "in vitro".
*Rev. Microbiol.*, *10*(1):6-9, 1979.

*Resumo:* Algumas modificações na técnica clássica de titulação de toxinas e anatoxinas tetânicas "in vitro" permitem abreviar o tempo de floculação (kf) da reação. Estas modificações, consistindo no acerto do pH e no resfriamento prévio da mistura antígeno-anticorpo tetânico, possibilitaram também a obtenção de uma única zona de floculação.

*Abstract:* Modifications to the classical titration techniques of tetanus toxins and anatoxins "in vitro", enabling an abbreviation of the flocculation time (kf), by adjusting the pH as well previous cooling of the antigen-antibody mixture, resulted into a single flocculation zone.

72. ONAN, K.D.; LAVIE, D.; VELDE, V.V.; ZELNIK, R.
Crystal structure of cordialin A acetate, an unusual dammarane triterpene hemiacetal.
*J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*,: 323-6, 1985.

*Abstract:* The structure of cordialin A has unambiguously been determined to be (24S)-24,25-epoxy-11$\alpha$-hydroxydammar-20(22)en-23-one 3,19-hemiacetal by an X-ray analysis of its C(11) acetate. Crystals are orthorhombic, space group $P2_12_12_1$, a = 6.431(4), b = 20.530(5), c = 21.777(8) A, Z = 4. The ring conformations adopted are: for A, a very distorted boat; for B, a flattened chair; for C, a puckered chair; and for D, a distorted envelope.

*Resumo:* A estrutura da cordialin A foi estabelecida de forma inequívoca como sendo a do 3,19-hemiacetal da (24S)-24,25-epóxi-11 O-hidróxidamar-20(22)ene-23-ona pela análise do Raio-X do seu acetate no átomo de carbono em 11. Os cristais são ortorômbicos e as distâncias dos grupos $P2_12_12_1$, a=6.431(4), b=20.530(5), c=21.777(8) A, Z=4.

73. PEREIRA, M.M.M.; MALUCELLI, M.I.C.; HUTZLER, R.U.; VIZEU, D.M.
Avaliação da aplicabilidade da radiação gama no preparo da vacina antipertussis.
*Rev. Farm. Bioquim. Univ. S. Paulo*, *20*(1):56-64, 1984.

*Resumo*: Usando o teste de toxidez e proteção em camundongos, doze lotes de vacina antipertussis foram inativadas utilizando o método clássico e o método por radiação ionizante gama, obtida a partir do cobalto 60 de fonte radioativa J.S. 7.400, Atomic Energy of Canada Limited, e conservadas em câmara fria de 2°C a 8°C por três meses. No grupo submetido à radiação houve inativação de bactérias, porém não se obteve destoxificação imediata. A imunogenicidade da vacina não foi alterada pela radiação, tendo a atividade protetora ocorrido semelhantemente nos dois métodos.

*Abstract*: Twelve lots of antipertussis vaccines were inactivated by the classical method and by radiation from $Co^{60}$ source, and stored at temperatures ranging from 2°C to 8°C for three months. Those vaccines were checked using the tests of toxicity and protection in mice. In the group submitted to radiation there was complete bacterial inactivation but not immediate destoxification. The immunogenicity of the vaccines was not changed by radiation. The protective activity on mice was similar in the lots treated by the classical method and by radiation.

74. PLUCIENNIK, A.M.A.; RIZZO, E. de; HIGASHI, H.G.; KONISHI, C.K.; FREITAS, E.S.; VENEZIANI, P.; TAKABAYASHI, Y.; SILVEIRA, E.E.E.
Reações locais e níveis de antitoxina circulante decorrentes de administração do toxóide tetânico; estudo comparativo entre Ped-o-Jet e seringa hipodérmica.
*Rev. Saúde Públ.*, *19*:201-14, 1985.

*Resumo*: Com o objetivo de comparar reações locais e conversão sorológica apresentadas por adultos que receberam o toxóide tetânico através de Ped-o-Jet (via subcutânea) ou de seringa hipodérmica (via intramuscular), o toxóide foi administrado a 472 recrutas do Exército. Em observações realizadas 4 e 24 horas após a vacinação verificou-se que as reações locais dos indivíduos vacinados com Ped-o-Jet eram significativamente mais freqüentes e mais intensas do que aquelas dos vacinados com seringa hipodérmica, não tendo ocorrido, entretanto, reações graves. A conversão sorológica dos não imunes vacinados com Ped-o-Jet ocorreu numa freqüência maior do que nos indivíduos vacinados com seringa hipodérmica. Conclui-se, portanto, que o Ped-o-Jet pode ser utilizado em campanhas de vacinação em massa contra o tétano, embora a via de administração preferencial, até o momento, seja a intramuscular.

*Abstract*: This paper deals with the administration of tetanus toxoid to 472 army recruits, 50% of which received the vaccine subcutaneously using a Ped-o-Jet pressure injector and the remaining subjects received the vaccine intramuscularly, with hypodermic syringe and needle. The objective was to draw comparative conclusions regarding local reactions and serumconvertion in those

young adults. Local reactions were observed four and 24 hours after immunization. Although significantly more frequent and intense in individuals receiving the toxoid by jet injection than in those inoculated with hypodermic syringe, no serious reactions were registered. At the first observation, local reactions occured in 64% of black men vaccinated by Ped-o-Jet and in only 31% of those vaccinated by syringe 70% of the non-black showed local reactions when vaccinated by Ped-o-Jet and 21% when vaccinated by hypodermic syringe. At the second observation, black men vaccinated by Ped-o-Jet showed local reactions in 78% of the cases and in 3% when vaccinated by syringe; 87% of the non-black had some kind of local reaction when vaccinated by Ped-o-Jet and 17% when the vaccine was administered by syringe. Systemic reactions did not differ in either group. There was no statistical difference between blacks and non-blacks regarding local reactions. Antibody response to vaccination as measured by the paper filter Whatman 31 technique, after digital punction, occured in a higher frequency in non-immune individuals vaccinated by Ped-o-Jet than in those vaccinated by hypodermic syringe. While in the first ones only 6,6% did not show serum-convertion, 26,9% of those vaccinated by syringe remained susceptible. The jet injector did not have any performance problems and was well accepted by the subjects. Results led to the conclusion that the Ped-o-Jet can be used for mass vaccination against tetanus.

75. QUEIROZ, L.S.; SANTO NETO, H.; ASSAKURA, M.T.; REICHL, A.P.; MANDELBAUM, F.R.
Muscular lesions induced by a hemorrhagic factor from *Bothrops neuwiedi* snake venom.
*Brazilian J. Med. Biol. Res., 18*:337-40, 1985.

*Abstract*: 1. The local tissue effects of crude *Bothrops neuwiedi* snake venom and of its hemorrhagic factor (NHF) were studied on mouse tibialis anterior muscle *in vivo*. After 6 h, 8 days and 6 weeks the muscles were examined in paraffin sections stained with hematoxylin and eosin. 2. Both NHF and crude venom produced hemorrhage and myonecrosis, later followed by muscle fiber regeneration. Intramuscular arteries also suffered necrosis. The minimal dose of NHF necessary to produce detectable hemorrhage and myonecrosis was 50 ng, while the minimal venom dose needed to produce the same effect was 20 times higher. 3. The results indicate that NHF is one of the major factors responsbible for the local effects of *B. neuwiedi venom*.

*Resumo*: 1. Os efeitos locais do veneno de *Bothrops neuwiedi* e do seu fator hemorrágico (NHF) foram estudados, *in vivo*, no músculo tibialis anterior de camundongo, após 6 h, 8 dias e 6 semanas. Os efeitos nos músculos foram examinados em cortes de parafina corados com hematoxilina e eosina. 2. Tanto o NHF quanto o veneno bruto produzem hemorragia e mionecrose, com posterior regeneração da fibra muscular. As artérias intramusculares também sofrem necrose. A dose mínima de NHF necessária para produzir hemorragia e mionecrose detectáveis foi de 50 ng, enquanto que a dose mínima de veneno para produzir o mesmo efeito é 20 vezes maior. 3. Os resultados indicam que o NHF é um dos fatores mais importantes, responsável pelos efeitos locais do veneno de *B. neuwiedi*.

76. QUEIROZ, L.S.; SANTO NETO, H.; ASSAKURA, M.T.; REICHL, A.P.; MANDELBAUM, F.R.
Pathological changes in muscle caused by haemorrhagic and proteolytic factors from *Bothrops jararaca* snake venom.
*Toxicon, 23*(2):341-5, 1985.

*Abstract*: Haemorrhagic factor $HF^2$, and bothropasin, two metalloproteins isolated from the venom of *Bothrops jararaca*, caused haemorrhage followed by myonecrosis and arterial necrosis after i.m. injection in mice. The effects of $HF_2$ were qualitatively similar to those of bothropasin and crude *B. jararaca* venom, but its potency was about 20 times higher. The haemorrhagic and necrotizing actions of these components are unrelated to their proteolytic activity on casein.

*Resumo*: O fator hemorrágico $HF_2$ e a bothropasina, duas metaloproteínas isoladas do veneno de *Bothrops jararaca*, causam hemorragia seguida de mionecrose e necrose arterial após injeção i.m. em camundongos. Os efeitos do $HF_2$ são qualitativamente similares aos da bothropasina e do veneno bruto de *B. jararaca*, mas a potência do $HF_2$ é cerca de 20 vezes superior. As ações hemorrágica e necrosante destes componentes não estão relacionadas com as respectivas atividades proteolíticas sobre a caseína.

77. RAW, I.
Effect of extra-hepatic Walker sarcoma 256 on the synthesis and degradation of liver cytochromes P-450 and $b_5$.
*Brazilian J. Med. Biol. Res., 16*:291-5, 1983.

*Abstract*: Extra-hepatic Walker sarcoma 256 produced a marked decrease (≈60%) in the levels of cytochrome P-450 and NADP-cytochrome P-450 reductase in rat liver endoplasmic reticulum, and a lesser decrease (≈20%) of cytochrome $b_5$ and NADH-cytochrome $b_5$ reductase. Polychlorinated biphenyls induced the synthesis of these cytochromes and reductases to approximately the same extent both in normal and tumor-bearing rats. The double-label technique was used to demonstrate that the synthesis of cytochromes P-450 and $b_5$ was reduced in the liver of tumor-bearing rats. The turnover of cytochrome P-450 was not affected by the tumor, whereas cytochrome $b_5$ turnover was decreased. It is proposed that Walker sarcoma 256 mainly affects the transcription of cytochromes P-450 and $b_5$ through a toxohormône, and that a regulatory mechanism coordinates the level of each cytochrome and its respective reductase.

*Resumo*: O sarcoma de Walker 256 extra-hepático produz uma diminuição nítida (≈60%) dos níveis de citocromo P-450 e NADPH-citocromo P-450 redutase no retículo endoplástico do fígado de rato, e uma diminuição menos intensa (≈20%) do citocromo $b_5$ e NADH-citocromo b5 redutase. Bifenis-policlorinados induzem a síntese destes citocromos e redutase para aproximadamente o mesmo nível em ratos normais e portadores de tumor. A técnica de duplo marcadores foi usada para demonstrar que a síntese dos citocromos P-450 e $b_5$ estava reduzida nos animais portadores de tumor. A renovação de citocromo P-450 não foi afetada pelo tumor, enquanto que a do citocromo $b_5$ diminui Propõe-se que o sarcoma de Walker 256, através de um toxormonio, altera a transcrição dos citocromos P-450 e $b_5$ e que um mecanismo regulatório coordena o nível dos citocromos com as respectivas redutases.

78. RAW, I. & DIFINI, F.
The possible role of ATP-dependent proteolysis on the solubilization of methemoglobin reductase during reticulocyte maturation.
*Biochem. Biophys. Res. Commun., 116*(2):357-9, 1983.

*Abstract*: The ATP-dependent proteolytic system present in reticulocytes can release the active hydrophilic domain of cytochrome $b_5$ and NADH-cytochrome $b_5$ reductase from the endoplasmic reticulum, that in mature erythrocytes act as methemoglobin reductase.

*Resumo*: O sistema de proteólise dependente de ATP, presente nos reticulócitos, pode liberar do retículo endoplasmático o domínio hidrofílico ativo do citocromo b5 e NADH-citocromo b5 redutase, que no eritrócito maturo atuam como metemoglobina redutase.

79. RAW, I.; ROCHA, M.C.; ESTEVES, M.I.; KAMIGUTI, A.S.
Isolation and caracterization of a thrombin-like enzyme from the venom of *Crotalus durissus terrificus*.
*Brazilian J. Med. Biol. Res., 19*:333-8, 1986.

*Abstract*: 1. A thrombin-like enzyme was isolated in 6% yield from the venom of *Crotalus durissus terrificus* by ammonium sulfate precipitation followed by gel filtration on Sephadex G-75 and finally affinity chromatography on Sepharose-1,4-butanediol-diglycyl-*p*-aminobenzamide eluted with 0.15 M benzamidine. 2. The enzyme behaved like a single component on SDS-PAGE corresponding to a molecular weight of 34 kDa. The specific activity of the enzyme toward bovine fibrinogen was 71 NIH U/mg protein. 3. The pH optimum for the coagulation of human fibrinogen was 8.0. The enzyme hydrolyzes the α-chain of fibrinogen, has amidase activity on *L*-arginine-*p*-nitroanilide and *L*-arginine-7-amido-4-methyl-coumarin amino terminal blocked peptides and presents esterolytic activity on N-α-tosyl-L-arginine-methylester.

*Resumo*: 1. Uma enzima tipo trombinca foi isolada, com um rendimento de 6%, por precipitação com sulfato de amonio seguida de filtração em Sephadex G-75 e finalmente cromatografia de afinidade em Sepharose-1-4-bunanediol-diglicil-p-aminobenzaldeido e eluida com 0,15 M de benzamidina. 2. A enzima se comporta como tendo um único complente em SDS-PAGE, com um peso molecular 34kDa. A atividade específica da enzima, com fibrinogênio bovino é de 71 NIH U/mg de proteína. 3. O pH ótimo para a coagulação de fibrinogênio humano é 8.0. A enzima hidroliza a cadeia α do fibrinogênio, tem uma atividade amidinasica sobre L-arginina-p-nitroanilide e L-arginina-7-amido-4-metilcoumarina, com o grupo aminoterminal bloqueado. A enzima apresenta uma atividade esterolítica sobre N-α-tosil-L-aginina-metil ester.

80. REICHL, A.P.; ASSAKURA, M.T.; MANDELBAUM, F.R.
Biophysical properties and amino acid composition of *Bothrops* protease A, a proteolytic enzyme isolated from the venom of the snake *Bothrops jararaca* (Jararaca).
*Toxicon, 21*(3):421-7, 1983.

*Abstract*: *Bothrops* protease A, an arginine-ester hydrolase, is active on protamine, gelatine and insulin and was isolated from the venom of *Bothrops jararaca* in a homogeneous state, as judged by polyacrylamide gel electrophoresis and ultracentrifugal analyses. The enzyme has a molecular weight of 65,000 and a pl of 3.55. The enzyme is a glycoprotein whose amino acid content corresponds to 55% of the molecular weight.

*Resumo*: *Bothrops* protease A, uma arginina éster hidrolase, ativa sobre a protamina, gelatina e insulina, foi isolada do veneno de *Bothrops jararaca*, apresentando-se homogênea por eletroforese em gel de poliacrilamida e análises de ultracentrifugação. O peso molecular da enzima é de 65.000 e seu pl é 3,55. A enzima é uma glicoproteína e seu conteúdo em aminoácidos corresponde a 55% do peso molecular.

81. RIBEIRO, L.R. & BEÇAK, W.
Estudo de mutagênese em células germinativas de mamíferos: avaliação dos principais métodos.
*Rev. Bras. Genet., 7*(2):321-32, 1984.

*Resumo*: Este trabalho apresenta, em resumo, os métodos mais comumente usados nos testes de mutagênese, em linhagem germinativa masculina de mamíferos, e discute sua significação para a prevenção de distúrbios genéticos hereditários no homem. Entre os métodos descritos, cinco são para a detecção de anomalias cromossômicas (letal dominante, translocação herdável, cromossomos meióticos, complexos sinaptomênicos e micronúcleos meióticos), um para a detecção de

mutações gênicas (teste do locos especifico) e um ainda não avaliado plenamente (teste do esperma).

*Abstract*: This paper summarizes the methods most commonly in use in male mammalian germline mutagenesis tests and discusses their significance for the prevention of inherit-ed genetic damage in man. Among the methods reported, five are for the detection of chromosomal abnormalities (dominant-lethal, heritable translocation, meiotic chromosomes, synaptonemal complexes and meiotic micronucleus), one is for the detection of gene mutations (specific-locus test), and one has not yet been fully evaluated (sperm test).

82. RIZZO, E. de; VAZ, C.A.C.; MENDES, I.F.; YANO, A.F.B.
Study on the growth promoting capacity of calf and fetal bovine serum for animal cells "in vitro". II. Eletrophoretic study and survey on the antiproteolytic activity of pools of calf and fetal bovine serum.
*Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 26*(2): 97-104, 1984.

*Abstract:* Calf serum and fetal bovine serum present great variability as to its growth promoting efficiency (GPE). As supplement of culture media to cultivate cells of animal origin they stimulate the "in vitro" multiplication and maintain cell viability. When fourteen lots of calf sera of variable GPE had the total protein contents as well as the percentages of serum fractions determined, no significant differences that could possibly explan the variability of the GPE were observed. Evaluation of antiproteolytic activity of nineteen lots of calf serum and eighteen serum lots of younger calves showed that the former exhibited lower antiproteolytic titers (1:40 to 1:80) than the latter (1:80 to 1:160). Twelve lots of fetal bovine serum studied in parallel, showed the highest concentration of antiproteolytic factors, with titers equal to 1:320. Sera of bovine origin, but not fetal sera, are usually heat-inactivated, what was demonstrated to be responsible for the decrease of the antiproteolytic activity of 75% of the lots tested. This could explain the inability of certain heat-inactivated sera in promoting multiplication of some cells "in vitro", as verified with primary monkey kidney cells. The results obtained in the study indicated the convenience of submiting each lot of serum to be introduced in cell culture to previous determination of its characteristics, such as growth promoting efficiency, antiproteolytic activity and also toxicity, absence of extraneous agents, etc., in order to minimize the possibility of using serum lots of questionable quality, thus preventing not only the loss of cell lines, but also undesirable and sometimes expensive delays.

*Resumo:* O soro de vitelas e o soro fetal bovino apresentam grande variabilidade no que se refere à sua capacidade promotora de crescimento (CPC) e são empregados no cultivo de células de origem animal, suplementando os meios de cultura com a finalidade de estimular a multiplicação das células "in vitro", assim como manter a viabilidade das mesmas. Quando 14 lotes de soro de vitelas apresentando diferentes CPC tiveram seu teor total de proteínas, assim como as percentagens séricas presentes determinados, não foram observadas diferenças significativas que justificassem a variação daquela capacidade.
Na avaliação da atividade antiproteolítica (AA) de 19 lotes de soros de vitelas e de 18 de soros de bezerros de tenra idade, foi constatado que os primeiros apresentavam títulos antiproteolíticos mais baixos (1:40 a 1:80) do que os registrados para os segundos (1:80 a 1:160). Doze lotes de soros fetais bovinos, avaliados em paralelos, exibiram concentração elevada de fatores-antiproteolíticos, evidenciada por títulos de 1:320. A inativação a 56C durante 30 min. a que são geralmente submetidos os soros de origem bovina (com exceção dos fetais) demonstrou ser responsável pela baixa da AA dos mesmos, o que talvez justifique a incapacidade que certos soros inativados têm, de promoverem a multiplicação de algumas células, "in vitro", como é o caso das células primárias de rim de macaco.
Os resultados obtidos salientam a conveniência de se determinar previamente, para cada lote de soro de origem bovina a ser introduzido em cultura celular, certas características, tais como a capacidade promotora de crescimento, a atividade antiproteolitica e também a ausência de agentes adventícios, toxicidade etc., de modo a minimizar a possibilidade de, ao utilizar lotes de soro de qualidade questionável, incorrer em perda de linhagens celulares, assim como em indesejáveis atrasos.

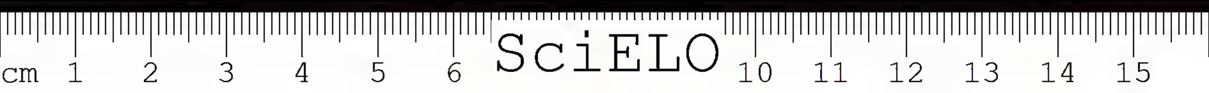
83. ROMANO-HOGE, S.A.R.W.L.; LUCAS, S.M.; MECCA-PINTO, M.
Resumo, considerações gerais, propostas de padronização de resumo preliminar e de glossário.
In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PUBLICAÇÕES, São Paulo, 1981. Anais. p. 271-277.

*Resumo:* Propostas de padronização e de resumo preliminar, bem como considerações sobre a clareza do texto do resumo, posicionamento, número de palavras, abuso das repetições, vantagens do texto conciso despertando o interesse do leitor. Proposta de um glossário dentro de cada especialidade no fim da revista.

*Abstract:* Propositions of padronization about the abstract, and about the preliminary abstract, as well as recommendations about neatness, position in the text, number of words, abusive repetition, advantages of a short and comprehensive text. Proposition of a glossary concerning each specialization at then end of the revue.

84. ROMEIRO, S.A.; TAKEHARA, H.A.; MOTA, I.
Isotype of lytic antibodies in serum of Chagas' disease patients.
*Clin. exp. Immunol., 55*: 413-8, 1984.





*Abstract:* The isotype of anti-Trypanosoma cruzi lytic antibodies present in sera obtained from patients with the chronic phase of Chagas disease was determined. Serum samples were submitted to gel filtration in Sephacryl S-200, ion exchange chromatography in DEAE-cellulose, affinity chromatography with protein. A and immunoadsorption with anti-human IgG-Sepharose. The results of these experiments showed that human anti-T. cruzi lytic antibodies are mainly located in the IgG isotype probably in the IgGl and IgG2 subclasses.

*Resumo:* Neste trabalho determinou-se o isotipo dos anticorpos anti-Trypanosoma cruzi presente em soros de pacientes na fase crônica da doença de Chagas. As amostras dos soros foram submetidas a filtração em gel usando-se o Sephacryl S-200, cromatografia de troca iônica com DEAE-celulose, cromatografia de afinidade com proteina A-Sepharose e imunoadsorção com Sepharose conjugada com anticorpos anti-IgG humana. Os resultados mostraram que os anticorpos anti-T. cruzi com atividade lítica estão localizados principalmente no isotipo IgG, provalmente nas subclasses IgG1 e IgG2.

85. RUIZ, I.R.G.; ALMEIDA, T.M.B. de; BEÇAK, W.
Active nucleolar-organizer regions in polyploid populations of *Odontophrynus americanus* (Amphibia, Anura) from south Brasil.
*Genetica, 63*: 31-7, 1984.

*Abstract.* Specimens of O. americanus collected in eight localities from Rio Grande do Sul and four from Paraná (Brasil) were studie. Patterns of chromosomal localization and activit of nucleolar organizer regions (NORs) were established using the silver banding technique. It was shown that diploid and tetraploid specimens from all localities have homologues of group 4 bearing active NORs. In addition, some populations showed NOR activity on only one homologue number 5 (Uruguaiana, Prudentópolis), 8 (Itaqui) or 2 (Pato Branco), Intrapopulation polymorphism was found, some specimens showing the extra band and others not. Most cells analysed from the intestinal epithelium of an individual showed the same particular staining pattern of NORs, which were unequally stained, suggesting differences in their activity. The tetraploid genomes showed a maximum of five and a minimum of two active NORs. Diploid genomes showed two active NORs and four in the case of one specimen from Pato Branco. Four diploid populations and symplatry of 2n and 4n animals in Santa Bárbara do Sul (RS) were detected for the first time in South Brasil. Karyological evolution, as well as the meaning of number and unequal activity of NORs on tetraploid genomes are discussed.

Resumo: Estudaram-se espécimes de *O. americanus* coletados em oito localidades do Rio Grande do Sul e quatro do Paraná (Brasil). Utilizando a técnica de bandamento pela prata, estabeleceram-se padrões das regiões organizadoras nucleolares, (NORs) quanto à sua localização cromossômica e atividade gênica. Mostrou-se que os espécimes diplóides e tetraplóides de todas as localidades apresentam NORs ativas nos homólogos do grupo 4. Além disso, algumas populações mostraram atividade da NOR em apenas um homólogo número 5 (Uruguaiana, Prudentópolis), 8 (Itaqui) ou 2 (Pato Branco). Foi encontrado polimorfismo intrapopulacional, alguns espécimens apresentando a banda extra, e outros não. A maioria das células analisadas do epitélio intestinal de um indivíduo mostrou o mesmo padrão particular de coloração das NORs, que se coraram desigualmente, sugerindo diferenças em sua atividade. Os genomas tetraplóides mostraram um máximo de cinco e um mínimo de duas NORs. Genomas diplóides mostraram duas NORs ativas, e quatro, no caso de um espécimem de Pato Branco. Foram estudadas quatro populações diplóides e, pela primeira vez, relatada a simpatria de animais 2n e 4n em Santa Barbara do Sul (RS) no Sul do Brasil. Discute-se a evolução cariológica, assim como o significado do número e atividade desigual das NORs em genomas tetraplóides.

86. RUIZ, I.R.G.; BONALDO, M.F.; BEÇAK, W.
In situ localization of ribosomal genes in a natural triploid of *Odontophrynus*.
*J.Heredity, 71*: 55-7, 1980.

*Abstract.* A natural triploid was found in a diploid population of Odontophrynus cultripes of Minas Gerais, Brazil. This young animal with a karyoutype of 3n = 33 was phenotypically like the diploid O. cultripes. In situ hybridization with rRNA from Xenopus laevis showed that the ribosomal cistrons are clustered mainly in the secondary constriction of two chromosome 11 homologues, which were also positive for AgAS-banding. Comparison of the karyotype of this triploid with the artificial triploid hybrids from 4n O. americanus and 2n O. cultripes, the AgAS-banding and the in situ hybridization patterns leads us to suggest that this triploid is an interspecific hybrid produced in nature by the mating of sympatric 4n O. americanus and 2n O. cultripes.

Resumo: Foi encontrado um triplóide natural numa população diplóide de *Odontophrynus cultripes* de Minas Gerais, Brasil. Este jovem animal com cariótipo 3n = 33 era fenotipicamente semelhante ao diplóide *O. cultripes*. Hibridização "in situ" com rRMA de *Xenopus laevis* mostrou que os cistrons ribossômicos estão agrupados principalmente na constrição secundária de dois cromossomos homólogos 11, que também foram positivos para o bandamento Ag-AS. A comparação do cariótipo deste triplóide com os híbridos triplóides artificiais entre *O. americanus* 4 n e *O. cultripes* 2n, assim como o bandamento Ag-AS e padrões de hibridização "in situ", sugerem que este triplóide é um híbrido interespecífico produzido na natureza pelo cruzamento de *O. americanus* 4n e *O. cultripes* 2n, ocorrido em região de simpatria.

87. RUIZ, I.R.G.; CEI, J.M.; BEÇAK, W.
Chromosomal evolution in allopatric populations of the *Odontophrynus occidentalis* group (Amphibia, Anura) from western Argentina.
*Cytogenet. Cell Genet.*, *33*: 303-11, 1982.

*Abstract.* A karyological study of some populations of the Odontophrynus occidentalis group (2n = 22) from Argentina is reported. Ammoniacal silver (Ag-AS) and alkaline Giemsa (CBG) staining have been performed on specimens from La Rioja, Mendoza, Malargue, Tamelen, Tapiluque, Valcheta, and Meseta de Somuncura. All populations showed active ribosomal cistrons (NORs) on chromosome 11. Some metaphases of three specimens from Mendoza and five from La Rioja also showed bands on 9. Centromeric and telomeric C-bands were common to all populations, and a block of heterochromatin on both sides of the centromere of 2 was remarkable in all but the La Rioja populations. The specimens from La Rioja showed a similar block of heterochromatin on the short arm of 1.
Taxonomic studies of several specimens from these localities revealed differences in larval development, glandular pattern, the size of specimens, etc. As a whole, biological as well as karyological features suggest that the isolated population at La Rioja is a separate entity, at the especies level, as described elsewhere.

Resumo: Relatamos um estudo cariológico de algumas populações do grupo *Odontophrynus occidentalis* (2n = 22) da Argentina. Coloração por prata amoniacal (Ag-AS) e Giemsa alcalino (CBG) foi realizada em espécimens de La Rioja, Mendoza, Malargue, Tamelen, Tapiluque, Valcheta e Meseta de Somuncurá. Todas as populações apresentaram cistrons ribossônicos ativos (NORs) no cromossomo 11. Algumas metáfases de três espécimes de Mendoza e cinco de La Rioja também apresentaram bandas no 9. Bandas C centroméricas e teloméricas foram comuns para todas as populações e destacou-se um bloco de heterocromatina em ambos os lados do centrômero do cromossomo 2 em todas as populações, com exceção de La Rioja. Os espécimes de La Rioja apresentaram um bloco heterocromático similar no braço curto do cromossomo 1.
Estudos taxonômicos de diversos espécimes destas localidades mostraram diferenças no desenvolvimento larval, padrão glandular, tamanho dos espécimens, etc. No seu conjunto, as características biológicas e cariológicas sugerem que a população isolada de La Rioja é uma entidade separada, a nível de espécie, como descrito em outro artigo.

88. RUIZ, I.R.G.; SOMA, M.; BEÇAK, W.
Nucleolar organizer regions and constitutive heterochromatin in polyploid species of the genus *Odontophrynus* (Amphibia, Anura).
*Cytogenet. Cell Genet.*, *29*: 84-98, 1981.

*Abstract.* Chromosome banding patterns obtained by ammoniacal silver staining (Ag-AS) and alkaline Giemsa (CBG) have been analysed in several amphibian species of the genus Odontophrynus from South American. Ag-AS bands were found at secondary constrictions, mainly of chromosomes 4 and 11. The CBG technique revealed centromeric and telomeric constitutive heterochromatin on almost all chromosomes of these species. Moreover, intercalary bands were found at particular sites of several chromosomes. Some inter-and intra-population polymorphisms were found for the Ag-AS and C-banding patterns. The species variability in the number and position of the Ag-AS bands, known to be regions of active ribosomal cistrons, as well as the specific sites of intercalary heterochromatin, are used to discuss the possible evolutionary relationships among these species.

Resumo: Padrões de bandamento cromossômico obtidos por coloração com prata amoniacal (Ag-AS) e Giemsa alcalino (CBG) forarn analisados em diversas espécies de anfíbios do gênero *Odontophrynus* da America do Sul. Bandas Ag-AS apareceram em constrições secundárias, principalmente dos cromossomos 4 e 11. A técnica CBG revelou heterocromatina constitutiva centromérica e telomérica em quase todos os cromossomos destas espécies. Além disso, bandas intercalares foram encontradas em regiões particulares de diversos cromossomos. Os padrões de bandamento Ag-AS e C-revelaram alguns polimorfismos inter e intra-populacionais. A variabilidade, em nível de espécie, quanto ao número e posição das bandas Ag-AS, conhecidas como regiões que contêm genes ribossômicos ativos, assim como as regiões específicas de heterocromatina intercalar estão sendo usadas para a discussão das possíveis relações evolucionárias entre estas espécies.

89. SALIBA, A.M.; BELLUOMINI, H.E.; LEINZ, F.F.
Experimentelle *Crotalus*-vergiftung bei rindern-anatomisch-pathologische studie.
*Dtsch. Tierarztl. Wschr.*, *90*: 513-7, 1983.

Zusammenfassung. Bei 16 mit 0,05 mg/kg des getrockneten Gifts von Crotalus durissus terrificus experimentell vergifteten Rindern, von denen 12 einer Serum-Therapie unterzogen wurden, wurden die folgenden Veranderungen beobachtet. Hamorrhagien traten in allen Organen auf, am starksten im Zentralnervensystem. 43% der Falle wiesen arteriolare hyaline Nekrosen im Gehirb und in der Lunge auf, bei 31% traten hyaline Thromben in den Arteriolen-und Kapillar-Lumina auf. Die Nierenschaden bestanden in fokaler Glomerulonephritis und tubularer Degeneration bei 31% der Falle. Hamoglobin-Ausfallungen wurden, im Gegensatz zu anderen Autoren, nicht gefunden. Alle Tiere hatten Veranderungen an der Injektionsstelle, die in einer entuzündlichen Reaktion der Haut mit purulenter Myositisz bestanden. Die myokardialen und Leber-Veranderungen waren degenerativer Art und bestanden in hydropischer Degeneration, Steatosis und Nekrosis.

Resumo: Em 16 bovinos envenenados experimentalmente com 0,05 mg/kg peso do corpo veneno seco de *Crotalus durissus terrificus* dos quais 12 foram submetidos a soroterapia, foram observadas as seguintes modificações. Em todos os orgãos ocorreram hemorragias, que eram mais fortes no sistema nervoso central. 43% dos casos apresentaram necroses hialinas arteriolares no cerebro e no pulmão, em 31% apareceram trombos hialinos nos lumens arteriolares e capilares. Os danos nos rins consistiram de glomerulonefrite focal e degeneração tubular em 31% dos casos. Perdas de hemoglobina, ao contrário de trabalhos de outros autores, não foram encontrados. Todos os animais mostraram modificações no local da injeção, consistindo de reação inflamatória da pele com miosite purulenta. As modificações miocardiais e do figado eram do tipo degenerativo e consistiram de degeneração hidrópica, esteatose e necrose.

90. SILVA, M.A. da; IIZUKA, H.; OLIVEIRA, E.P.T. de; HIGASHI, H.G.; ROLIM ROSA, R.
Obtenção de antitoxina perfringens do tipo A em escala industrial.
*Rev. Inst. Adolfo Lutz, 41* (1): 1-8, 1981.

*Resumo*. Descreve-se o método utilizado na preparação da antitoxina perfringica do tipo A, em escala industrial, pela hiperimunização de cavalos, através de antígeno misto, adsorvido pelo alúmen de potássio. Empregando-se esquema de imunização próprio, conseguiu-se obter soro antigangrenoso perfríngico tipo A, dosando ao redor de 200 UI/ml, título este que, após a concentração pelo método de Pope, elevou-se ao nível antitóxico de 850 a 1.000 UI/ml. O soro purificado e concentrado foi diluído convenientemente para compor o soro antigangrenoso polivalente.

*Abstracts*. A method is described for the preparation of Clostridium perfringens type A antitoxin, on industrial scale, by the hyperimmunization of horses with mixed alum-adsorbed antigen. With the use of the immunization method idealized in laboratory of Instituto Butantan, São Paulo, an antigangrenous Cl. perfringens type A antitoxin was obtained with a dosage of about 200 IU/ml, a titre that after concentration by Pope's method, increased to antitoxic levels of 850 to 1.000 IU/ml. The purified and concentrated antitoxin was conveniently diluted to constitute a polyvalent gas gangrene antitoxin.

91. SOERENSEN, B.; ALMEIDA, D.R.; PETRUSANIS, A.R.; AVILA, L.J.; RIBEIRO, E.M.; PEREIRA, M.M.M.; BRUZZO, D.
Estudo comparativo do teste de tuberculina pelos métodos de multipuntura (Tine Teste) e de Mantoux.
*Vac. Soros, 1*:39-43, 1985.

*Resumo:* Estudou-se comparativamente o teste de tuberculina realizado simultaneamente pelos métodos da multipuntura. "Tine Test" e Mantoux numa população de 116 estudantes universitários normais. A concordância de resultados de não reatores pelos métodos de Mantoux (PPD RT 23 2 UT) e multipuntura (PPD 5 UT) foram de 62.1% e 100% respectivamente, e a de reatores de 100 e 60%. Conclui-se que o método da multipuntura "Tine Test" poderá substituir o método de Mantoux, pela simplicidade, dispensando treinamento, comodidade operacional e ausência de qualquer risco de transmissão de moléstias, aliado à reprodutibilidade de resultados.

*Abstract:* The tuberculin test simultaneously realized by the multipuncture 'Tine Test' and Mantoux methods was studied in a population of 116 normal college students. The agreement of results by the multipuncture 'Tine Test' and Mantoux test was of almost 62,1% and 100% respectively related to non-reactors and 100% and 60% as to reactors. It follows that the multipuncture 'Tine Test' method may substitute the Mantoux method because its simplicity. It doesn't need training, its offers operational commodity and there is absense of any kind of risk in transmitting diseases besides the reproducibility of results.

92. SOERENSEN, B.; CURI, L.C.; LEITÃO, G.D.; NAKANDAKARE, I.K.; VITAGLIANO, L.A.; ISHIZUKA, M.M.
Mortalidade e ganho em peso de coelhos em relação ao peso no nascimento.
*Zootechia*, Nova Odessa, SP, *23*(3):233-43, 1985.

*Resumo:* Estudou-se uma população de láparos provenientes de cruzamentos das raças nova-zelândia-branca, califórnia e gigante-de-bouscat, com pesos ao nascimento variando de 20 g a 95 g. Observou-se que, quanto menor o peso ao nascimento, maior o risco de mortalidade. Os que nasceram com baixo peso apresentaram ganho em peso não satisfatório até o desmame, aos sessenta dias. O maior índice de nascimento esteve compreendido entre os pesos de 40 g a 70 g. Diante das observações, recomenda-se o sacrifício, no dia do nascimento, dos láparos com peso inferior a 40 g, possibilitando, assim, que os em melhores condições físicas apresentem maior desenvolvimento, trazendo, como resultado, o desmame em número mais elevado, com melhor peso e com menores custos por animal.

*Abstract:* A study was made about a population of young rabbits deriving from crossing of three species, White New Zealand, California and Giant Bouscat, obtaining young rabbits with weights at birth varyng from 20 to 95 grams. It was observed that the lesser the weight at birth, the higher the risk of mortality. Those rabbits that were born with low weight have presented an unsatisfactory gain of weight until the weaning at the 60th day. The highest birth rate was included between 40 to 70 grams of weight. Before those observations it is recommended the killing 40 grams at

birth, enabling young rabbits in better physical conditions to present number of weaning, with better weight and with lowest cost per animal.

93. SOERENSEN, B.; MACHADO, J.C.; ZEZZA NETO, L.
Meningoencefalite de caráter epizootico em coelhos.
*Rev. Latino-amer. Cunicult.*, *1*:21-5, 1980.

*Resumo*. Estudou-se num plantel de coelhos uma paraplegia comprometendo especialmente coelhos em reprodução. A moléstia, de evolução aguda, leva sempre à morte os animais em período geralmente não superior a 48 horas. A epizootia foi observada pela primeira vez nos meses de maio e junho (outono) de 1976 não tendo-se repetido até o presente ano (1979). Os estudos anatomo-patológicos efetuados em necrópsias de alguns animais revelou sistematicamente comprometimento das meninges e do encéfalo e secundariamente pneumonia, não existindo comprometimento digno de nota de outros órgãos e tecidos. Os exames bacteriológicos e parasitológicos foram sempre negativos, assim como as tentativas de reprodução experimental a partir de triturado de cérebro de animais doentes inoculados pela via intracerebral em coelhos recém-nascidos e adultos. O quadro histopatológico, entretanto, sugere possível etiologia viral.

*Abstract:* A paraplegia endagering specially rabbits in reproduction was studied in a breeding stock. The disease of acute evolution, leads always to death the animals in a period generally not superior to 48 hours. The epizootia was observed for the first time on Outone, May and June 1976 but did not repeat until the present year (1979). The anatomopatologic study done in necropsy of some animals revealed sistematically exposure to meninges of the encephalous and pneumonia, not existing a secundary compromise worthy of note of other organs and tissues. The bacteriological and parasitological exams were all negatives as well as the trials of experimental reproduction from the triturated (or gringed) brains of seek animals inoculated intracerebrously in rabbits embryos and adults. The histopatologic plate in the meantime suggests possible viral ethiology.

94. SOERENSEN, B.; PEREIRA, M.M.M.; DEZSA, M.
Reação vacinal local e BGC-teste em cobaios primovacinados com BCG via intradérmica e oral. Sua correlação com a conversão tuberculínica.
*Vac. Soros*, 1:71-7, 1985.

*Resumo:* Estudou-se o comportamento da reação vacinal e do BCG-Teste em cobaios previamente vacinados com BCG via intradérmica e via oral e sua correlação com a reação de tuberculina procurando obter informações sobre o grau de impregnação do organismo através desses procedimentos de vacinação. A presença de necrose com processo supurativo, observado na revacinação intradérmica e ao BCG-Teste, foi comparável nos animais previamente vacinados pela via intradérmica e pela via oral. Ao BCG-Teste, todos os animais do grupo controle não vacinados foram negativos. Embora a prova de tuberculina apresentasse sempre índices superiores nos animais vacinados pela via intradérmica, quanto ao BCG-Teste e à evolução da reação vacinal, as diferenças não foram significativas entre os animais vacinados pelas duas vias. Acredita-se que a presença de processo necrótico supurativo, observado no BCG-Teste e na revacinação, indique proteção mostrando bloqueio dos corpos bacilares e eliminação ao nível do ponto de inoculação, fato este verificado em proporções praticamente idênticas nos animais vacinados pela via intradérmica e pela via oral.

*Abstract:* The vaccinal reaction and BCG test behaviour in previously vaccinated guinea-pigs with intradermal and oral route BCG and its correlation with tuberculin reaction was studied to obtain information about the body in impregnation through two ways of vaccination. The presence of the suppurative necrotic process observed in the intradermal revaccination and the BCG test was compared in the animals previously vaccinated though the intradermal and oral route. All the animals of the non-vaccinated control group were negative to the BCG test. The differences between the animals vaccinated by the two routes were not significant to the BCG test and the vaccinal reaction evolution through the tuberculin test always presented superior rates in the animals vaccinated by the intradermal route. We believe that the presence of the suppurative necrotic process observed in the BCG Test and in the revaccination indicates protection demonstrating block of the bacillary bodies and elimination in the inoculation local. This was verified in identical proportions in the animals vaccinated by the two routes.

95. SOERENSEN, B.; PEREIRA, M.M.M.; SANTOS, E.M.; BRUZZO, D.; DEZSA, M.; SPINA, E.R.M.; CAMPOS, V.A.F.P.; LIBERMAN, C., SAKAUCHI, M.A.
A evolução da reação vacinal de adultos tuberculino positivos vacinados com BCG multipuntura.
*Vac. Soros*, 1:5-8, 1985.

*Resumo:* Estudou-se a evolução da reação vacinal no BCG multipuntura em 1.298 adultos normais que realizavam o serviço militar. Foi avaliada previamente a sensibilidade à tuberculina — (PPD RT 23 2 UT) e agrupados em reatores e não reatores. Após 60 dias de observação a freqüência da lesão vacinal foi superior nos reatores à tuberculina.
Conclui-se que a persistência da reação vacinal na técnica BCG multipuntura após 60 dias pode indicar vacinação anterior, tuberculose infecção, tuberculose doença ou infecção com outras micobactérias.

*Abstract:* The evolution of the local vaccinal reaction in BCG multipuncture vaccination in 1.298 adults men who joined the army was studied. Their tuberculin sensitivity (PPD RT 23 2 UT) was evaluated previously and they were separated in reactors and non-reactors groups. The frequency of local vaccinal reaction was greater in the tuberculin reactors after 60 days. This results suggests

that the persistence of vaccinal local reaction may indicate previous BCG vaccination, tuberculosis infection, tuberculosis disease or atypical mycobacteria inféction.

96. SOERENSEN, B.; PEREIRA, M.M.M.; SOUZA, G.A.; YAMAGUCHI, I.K.; SCALABRELLI, R. Normas para a preparação do BCG oral destinado ao tratamento coadjuvante das neoplasias. *Vac. Soros, 1*:64-70, 1985.

*Resumo:* Os resultados satisfatórios conseguidos no tratamento coadjuvante das neoplasias malignas, com destaque no melanoma maligno, ativando, de maneira inespecífica, os mecanismos de defesa imunológica, levaram os autores á preparação e estandardização do produto ONCO BCG contendo 100 mg de bacilos por mililitro, em flaconetes de 5 mililitros, para administração oral. O produto é preparado com BCG cepa Moreau e contém pelo menos 3 milhões de partículas vivas por miligrama. Deve ser conservado a 2°C a 8°C, com validade de 25 dias. Conforme ensaios clínicos terapêuticos realizados pelo Hospital A.C. Camargo de São Paulo, recomenda-se a administração em dosagem semanal de 250 a 3.000 miligramas ou em doses maiores a critério médico. Não tem contra-indicações, mas recomenda-se evitar a sua administração nos casos de estados febris e estados de severa depressão imunológica.
O produto de maneira geral é bem tolerado, o efeito colateral mais freqüente é a náusea geralmente de moderada intensidade, raramente poderão ocorrer fabrícula, diarréia e manifestações cutâneas urticariformes.

*Abstract:* The satisfatory results obtained in the coadjuvant treatment of the malignant neoplasias mainly of the malignant melanoma aiming the activation of the immunologic defense mechanisms not in a specific way the authors prepare and standardize the product "ONCO BCG" containing 100 mg of bacilli per milliliter in vial of 5 milliliters administered by oral route. The products prepared with BCG Moreau strain and contains at least 3 milions of live particles per milligrams. It must be kept between 2 and 8 degrees centigrade with the validity of 25 days. Accordins to therapeutic clinic assays that took place in S. Paulo, in the A.C. Camargo Hospital, it must be administered before breakfast in weekly dose from medical criterion. There is no counter-indication but it is advisable not to take it when there is fever or a severe immunologic depression. The product in a general way is well endured. Its most frequent side effect is the nausea which generally has a moderate intensity. Hardly ever it may occur aslight degree of fever, diarrhea or urticaria manifestations.

97. SOERENSEN, B.; SANTOS, E.M.; LIBERMAN, C.; DEZSA, M.; BRUZZO, D.; PEREIRA M.M.M.; SPINA, E.R.M.; CAMPOS, V.A.F.P.; ALVES, R.C.B.
Conversão tuberculínica na vacinação BCG multipuntura e seu relacionamento com a remoção acidental da vacina do ponto de vacinação.
*Vac. Soros, 1*:13-6, 1985.

*Resumo:* Uma população de 232 recrutas normais que realizaram o Serviço Militar, foi estudada relacionando a influência da remoção da vacina em grupos que inadvertidamente tomaram banho 2, 6 e 8 horas após a vacinação do BCG multipuntura com a conversão tuberculínica (PPD RT 23 2 UT). Concluiu-se que é recomendável não lavar o local da vacinação durante as primeiras 8:00 horas.

*Abstract:* The influence of the vaccine remotion in normal people in a population of 232 soldiers who joined the army was studied. These people inadvertently took bath, 2, 6 and 8 hours after BCG multipuncture vaccination and this remotion was related with the tuberculin conversion (PPD Rt 23 Ut). It follows that it is recommendable not to wash the vaccination local during the first eight hours.

98. SOERENSEN, B.; SANTOS, N.P.; VANCETTO, M.D.C.; LIMA, M.L.S.R.; CARVALHO, J.P.P.
Novo método de dosagem de soros antipeçonhentos em camundongos lactentes. I. Dosagem do soro anticrotálico.
*Rev. Inst. Med. trop. São Paulo, 26*(4):186-91, 1984.

*Resumo:* A atividade biológica dos soros antipeçonhentos pode ser determinada "in vivo" em pombos, coelhos, cobaios e camundongos adultos, não existindo, entretanto, nenhum método que possa ser recomendado internacionalmente. Estudou-se, comparativamente aos métodos tradicionais de dosagem de soros em pombos e camundongos adultos, a validade do uso de camundongos lactentes de 6 a 7 dias, pesando 4 a 5g, inoculados pela via subcutânea. Inicialmente foi determinada a toxidez do veneno de Crotalus durissus terrificus através do estudo da sintomatologia do envenenamento e da atividade letal. O estudo comparativo dos três métodos forneceu maior concordância de resultados em $DE_{100}$ entre as dosagens realizadas com camundongos lactentes e adultos. A $DE_{100}$ e $DL_{50}$ determinadas em camundongos lactentes forneceu resultados mais constantes que os dos métodos de camundongos adultos e pombos. O uso deste novo método permite eliminar a dificuldade de obtenção do atual animal de prova; a utilização de um maior número de animais por ponto de avaliação biológica, possibilitando uma maior precisão e conseguindo-se uma uniformidade nas características exigidas neste tipo de dosagem, como peso, idade e linhagem, visando à reprodução sistemática dos resultados.

*Abstract:*The biological activity of antiserum against venoms can be assessed by "in vivo" tests using pigeons, rabbits, guinea pigs and adult mice although there is no international standardized reaction for it.

The traditional methods using pigeons and adult mice were comparatively studied with those using mice of 4-5 g (6-7 days of age), inoculated by subcutaneous injection. The toxicity of the Crotalus durissus terrificus venom was initially determined by studying the symptomatology after

administration of venon and lethal activity. The comparative study of these three methods showed that the best concordance in the results of the $ED_{100}$ was obtained using adult and baby mice. The most homogeneous $ED_{100}$ and $LD_{50}$ results were found in baby mice when compared with those found in a in adult mice and pigeons.

With this new method we can avoid the difficult in obtaining those animals, besides utilization of a great number of animals per biological evaluation point reaching better precision and a great unformity, required in this type of dosage like weight, age and strains, in order to get better reproductibility of results.

99. SOERENSEN, B.; TAKEDA, A.K.; NAKANDAKARE, I.K.; CURI, L.C.; UMEKITA, L.F.; ZUCCAS, W.A.; GUIDONI, R.; MAGALHÃES, E.; BRITO, S.S.; FEIJO, I.C.
Sarampo: idade ótima e número de doses recomendadas para a vacinação no Brasil.
*Rev. Inst. Med. trop. São Paulo, 27*(2):55-65, 1985.

*Resumo:* Este estudo foi inicialmente conduzido em população adulta normal, compreendendo doadores de Banco de Sangue, estudantes universitários e parturientes, totalizando 889 indivíduos. Foi observado que cerca de 87% desta população apresentava anticorpos específicos para o sarampo, e que o mesmo percentual de positividade observado nas gestantes, foi encontrado nos seus respectivos conceptos dada a passagem transplacentária dos anticorpos maternos. Foi verificado o declínio desses anticorpos após o 4.º mês, do recém-nato. Os resultados à vacinação contra o sarampo foram estudados em 1.268 crianças divididas em três grupos: I) vacinadas aos 7 meses e revacinadas aos 15 meses; II) vacinadas aos 9 meses e III) vacinadas aos 7 meses e revacinadas aos 9 meses. Os resultados desse estudo indicam que, apesar da resposta à vacinação ter sido mais eficiente no grupo de crianças maiores, é importante que se vacine aos 7 meses de idade, embora a porcentagem de soroconversão tenha sido de 50%. Esta medida deve ser levada em consideração, tendo em vista que a mortalidade por sarampo em crianças com menos de 1 ano representa a metade dos óbitos pela doença. Foi verificado que, após a aplicação da 2.ª dose, não houve diferença quanto à soroconversão, tanto no grupo revacinado 2 meses ou 8 meses, após a 1.ª dose da vacina. Portanto, a vacinação aos 7 meses é necessária, visando diminuir a mortalidade e a morbidade dentro do 1.º ano de vida, e a revacinação aos 9 meses, a fim de imunizar as crianças não beneficiadas com a 1.ª dose.

*Abstract:* This study was firstly carried out in an adult healthy population, which included university students, blood bank donors and pregnant women with a total of 889 people. It was observed that about 87% of this population carried blood specific measles antibodies, and the same percentage of antibodies detection was observed in each respective newborns, due to the transplacental passage of maternal antibodies. These antibodies were periodically titrated from the day of birth up to 7 months of age. After 4 months of age starts the decline of the antibody levels or its extinction. The response to the vaccine was studied in 1.268 children which were divided in 3 groups: I) vaccinated at 7 months and then revaccinated at 15 months; II) vaccinated at 9 months; and III) vaccinated at 7 months and then revaccinated at 9 months.

This study have demonstrated that in spite of the response to the vaccine in older children being more efficient, it is very important in the actual epidemiological circunstances of measles in Brazil that the vaccination of children starts at 7 months, despite the percentage of seroconversions being around 50%. This point of view is substantiated by the observation that the mortality index in children under one year of age is responsible for half of the deaths occurring by measles in Brazil. After the second dose of measles vaccine it was not found any difference in the seroconvertion rates in the revaccinated group either at 2 months or 8 months after the first dose of vaccine.

The conclusion of this study was the recomendation of the measles vaccine being started at 7 months of age in an attempt to diminish the high mortality and morbidity rates in that group of age, being the revaccination mandatory at 9 months of age in order to protect those children who did not seroconvert after the first dose of vaccine.

100. STOCCO, R. C.; BEÇAK, W.; GAETA, R.; RABELLO-GAY, M. N.
Cytogenetic study of workers exposed to methylparathion.
*Mutat. Res., 103*: 71-6, 1982.

*Abstract.* When compared with non-exposed controls, a group of pesticide plant workers chronically exposed to methyl-parathion did not show an increased frequency of chromosome aberrations in lymphocyte cultures. Although methyl-parathion increased chromosome aberrations in cases of intoxication, a chronic exposure to small doses in the work place did not seem to produce the same effect.

*Resumo*: Quando comparados a controles não expostos, um grupo de operários de uma fábrica de pesticidas, expostos cronicamente ao metilparation, não apresentou freqüência aumentada de aberrações cromossômicas em culturas de linfócitos. Embora o metilparation aumente a taxa de aberrações cromossômicas em casos de intoxicação, exposição a pequenas doses, no ambiente de trabalho, não parece causar o mesmo efeito.

101. STOCCO, R. C.; CRUZ, G. C. C. da; BEÇAK, W.
X/15 translocation in a mentally normal XXX woman.
*Rev. bras. Genet., 3 (2)*: 165-77, 1980.

*Abstract*: Peripheral blood culture of a patient referred to us for genetic counseling showed trisomy of the X chromosome and translocation between an X and a chromosome 15. The patient, a mentally normal female, exhibited congenital bone malformation in the lower limbs (which had

been surgically corrected during childhood) and problems of abortion and secondary sterility due to anovulatory cycle. Bone malformation was also found in the brother, cousin and nephew of the proposita, all karyotypically normal. The proposita's mother is a carrier of 46, XX/47, XXX/48, XXXX mosaicism, with predominance of the 47, XXX line. We used G-banding, autoradiography, sex chromatin and drumstick techniques to study the chromosome anomalies. We discuss the late labelling behavior of the chromosomes involved in the translocation and the possible relationship between the cytogenetic anomalies and the phenotypes of the proposita and her mother.

*Resumo*: Através da análise citogenética de células de cultura de sangue periférico, verificamos trissomia do cromossomo X e translocação entre um dos X e um dos cromossomos do par 15 em paciente recebida para aconselhamento genético. A paciente, uma mulher mentalmente normal, apresentou histórico de malformação congênita dos membros inferiores (corrigida cirurgicamente na infância) e relatos de abortamento e esterilidade secundária devida a ciclo anovulatório. Os mesmos problemas ósseos foram relatados no irmão, primo e sobrinho da paciente, todos cariotipicamente normais. A mãe da probanda mostrou-se portadora de mosaicismo 46/XX/47, XXX/48, XXXX com predominância da linhagem 47,XXX. Todas as anomalias cromossômicas foram estudadas com técnicas de bandamento G, auto-radiografia, cromatina sexual e baquetas. Discutimos a replicação tardia dos cromossomos envolvidos na translocação e as possíveis relações entre as alterações cromossômicas e as características fenotípicas da paciente.

102. STOCCO, R. C.; CRUZ, G. C. C. da; SALIBA, F.; BEÇAK, W.
Cytogenetic effects of an organophosphorus pesticide on cattle and their progeny.
*Rev. bras. Genet.*, *4* (1): 55-63, 1981.

*Abstract*: Five healthy females *Bos taurus taurus* (L.) were exposed to the organophosphorus pesticide "Crufomate" (Dow Chemical Co.) for a 54-week period.
The karyotypes, obtained by short-term blood cultures, were analyzed before and after 18 and 54 weeks of treatment. The frequencies of aneuploid cells and cells with structural chromosome aberrations were recorded by two investigators.
After the beginning of the experiment, the females were mated to a normal bull and the resulting calves were also analyzed.
The results show a significant increase in the frequency of cells with structural chromosomal aberrations (mainly chromatid gaps) after 18 and 54 weeks from the first exposure. Structural aberrations were also significantly higher in the calves produced during the experiment.

*Resumo*: Cinco fêmeas saudáveis *Bos taurus taurus* (L.) foram expostas ao pesticida organofosforado "Crufomate" (Dow Chemical Co.) por um período de 54 semanas. Os cariótipos, obtidos através de culturas temporárias de linfócitos de sangue periférico, foram analisados antes e depois de 18 e 54 semanas de tratamento. A freqüência de células aneuplóides e de células com aberrações cromossômicas estruturais foram determinadas por dois investigadores. Após o início do experimento, as fêmeas foram cruzadas com um touro normal e os filhotes resultantes foram também analisados. Os resultados mostram um aumento significante da freqüência de células com aberrações estruturais (principalmente "gaps" cromatídicos) após 18 e 54 semanas, após a primeira exposição. Aberrações estruturais foram também significantemente maiores nos descendentes produzidos durante o experimento.

103. TAKEDA, A. K.; COSTA, L. M.; BARBOSA, S. F. C.; ADELINO, M. G. F.; VANCETTO, M. D. C.; LIMA, M. L. S. R.; PINTO, J. R.; SOERENSEN, B.; SANTOS, N. P.
Imunogenicidade do veneno de *Crotalus durissus terrificus* extraído nos anos de 1956, 1970 e 1982, em cavalos.
*Vac. Soros, 1*: 50-7, 1985.

*Resumo*: Foi comparada a imunogenicidade do veneno de *Crotalus durissus terrificus* obtidos nos anos de 1956, 1970 e 1982, através da imunização de cavalos. Padronizou-se a reação de hemaglutinação passiva (HAP) para detecção de anticorpos, comparando-a com a imunoeletroforese, floculação e soroneutralização em pombos. Os resultados mostraram a não-existência de diferenças com relação a imunogenicidade dos venenos extraídos nos anos de 1956, 1970 e 1982. Paralelamente constatou-se que a reação de hemaglutinação passiva (HAP) é mais sensível, reprodutível e de fácil execução, além de utilizar pouca quantidade de veneno. Conclui-se, também, que o teste de floculação não é adequado para a seleção dos animais a serem sangrados.

*Abstract*: The present study was carried out with the aim of examining:
1) The immunogenicity of *Crotalus durissus terrificus* venom extracted in 1956, 1970 and 1982;
2) Standardization of the Passive Hemagglutination test;
3) Evaluation of passive hemagglutination test, immunoelectrophoresis, floculation test and serum neutralization test in pigeon.
According to our results the hemagglutination test showed to be more sensitive than other tests. With a good reproductibility and easy to carry out. It also has a great advange in using a very small amount of venom. The floculation test was not a good method to be used as selection of animals to be bleeding.

104. TAKEDA, A.K. FERNANDES, M.R.; SOERENSEN, B.
O papel da alfa-amilase na enterite mucóide do coelho.
*Rev. Latino-amer. Cunicult.*, *1*: 41-7, 1980.

*Resumo*: Foram determinados os níveis de alfa-amilase no soro e urina assim como lisozima sérica nos coelhos normais e com enterite, na tentativa de relacionar esses níveis á etiologia das enterites que ainda não está bem definida. Estudou-se também o efeito da administração da alfa-

amilase do ponto de vista curativo e preventivo numa população de 1.056 coelhos e foi determinada a dose ideal como sendo de 0,25 g/coelho/dia via oral. Foi verificada a possibilidade da adição da enzima na ração antes da sua granulação.

*Abstract*: Levels of alpha-amylase in serum and urine as well as of serum lysozym were determined in normal rabbits with enteritis a trial to establish a relationship between concentration of these substances and the not-yet-well-defined etiology of this disorder.
Effect of administration of alpha-amylase to be rabbits were also studies in 1,056 animals under the curative and preventive point of view. The dose of 0,25g/rabbit/day given orally was shown to be the optimun dose for these purposes. The viability of adding this enzyme to the food before granulation was also considered.

105. UMEKITA, L. F.; TAKEDA, A. K.; RIBEIRO, M. A.; BARBOSA, S. F. C.; ADELINO, M. G. F.; CURY, M.; NEME, B.
Vacinação antimeningocócica na gravidez e passagem transplacentária de imunoglobulinas específicas.
*Vac. Soros, 1*: 78-87, 1985.

*Resumo*: Estudou-se a correlação de anticorpos específicos para *N. meningitidis* dos grupos A e C entre gestantes a termo normais vacinadas, não vacinadas e com doença meningocócica e seus respectivos recém-nascidos. Os anticorpos foram dosados no soro das mães e de seus filhos através da prova de hemaglutinação passiva. As diferentes classes de imunoglobulinas específicas e não específicas foram quantificadas por imunofluorescência indireta e imunodifusão radial respectivamente. Do presente estudo pode-se concluir que: 1) Com a vacinação das gestantes observa-se que houve passagem transplacentária de imunoglobulinas específicas em níveis relativamente baixos, tal como ocorre nas mães doentes; 2) Colostros de mães vacinadas apresentam altos títulos de anticorpos específicos para *N. meningitidis* A e C, quando comparados ao grupo-controle; 3) O colostro mostrou-se uma secreção de valor no suprimento do quadro de imunoglobulinas específicas dos recém-nascidos, complementando os níveis de anticorpos séricos, obtidos anteriormente através do cordão umbilical.

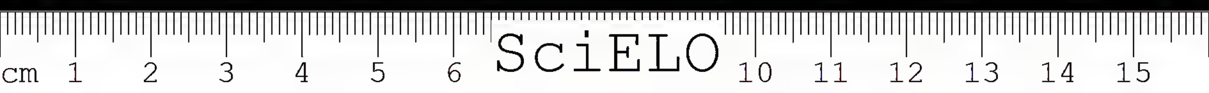
*Abstract*: Study was carried out about the correlation of specific antibody for groups A and C of *N. meningitidis*, in normal vaccinated and nonvaccinated pregnant woman, woman with meningococcal disease and new borns respectives. The antibody levels, was titrated in serum of mothers and their children through the passive haemagglutination test. The different classes of specific and nonspecific immunoglobulins was quantificated by the indirect immunofluorescence test and radial immunodiffusion test respectively. From this study might be concluding that: — 1) With the vaccination of pregnant woman, observed that occur transplacentary passage of specific immunoglobulins in relatively low levels, such as occur in woman with meningococcal disease. 2) The colostrum of vaccinated woman presented high level of specific antibodies to *N. meningitidis* A and C when compared with control group. 3) The colostrum presented as a high value secretion in the supriment of the specific immunoglobulin in newborn, complementing the level of serum antibodies, previously obtained about umbilical cord.

106. VANCETTO, M. D. C.; LIMA, M. L. S. R.; MOURA, E. R. G.; SANTOS, N. P.; SOERENSEN, B.
Aplicação do LAL (Limulus Amebocyte Lysate) para a detecção de pirogênio em soros hiperimunes. Estudo comparativo com o método tradicional em coelhos.
*Rev. Microbiol., 15* (3): 132-6, 1984.

*Resumo*: Para a liberação dos soros hiperimunes é recomendada em normas da O.P.S./O.M.S., a realização da prova de pirogênio em coelhos. Existem trabalhos com o intuito de substituir o método "in vivo" por um método "in vitro" na detecção de substâncias pirogênicas, pois, o método "in vivo" exige condições constantes quanto às características físicas do animal de prova, do ambiente de trabalho e na execução da prova, condições difícies de serem conseguidas. Estudou-se comparativamente ao método "in vivo" a eficiência da prova "in vitro" LAL (Limulus Amebocyte Lysate) para detecção de pirogênio em soros hiperimunes. Os autores concluem que é indispensável que o soro hiperimune a ser testado esteja com uma concentração protéica abaixo de 10g% para não se ter uma resposta falso-negativa. Das provas de pirogênio positivas em coelhos, 40,00% foram devidas à presença de endotoxinas bacterianas de germes Gram negativos e 46,66% decorrentes de outros fatores. Em número reduzido de soros (13,33%), foram detectadas pequenas quantidades de endotoxinas bacterianas de germes Gram negativos pela prova "in vitro" LAL que não foram capazes de induzir hipertermia em coelhos.

*Abstract*: For liberation of the hyperimmune sera is recommended by O.P.S./O.M.S. norms the realization of the pyrogen proof in rabbits. There are proceedings with intention to replace the "in vivo" method by an "in vitro" method for the detection of the pyrogenic substances since the "in vivo" method requires constant conditions of physical characteristics of the experimental animal, the work environment and the proof execution. Comparatively it was studied the efficiency of the "in vitro" proof LAL (Limulus Amebocyte Lysate) to the "in vivo" method for pyrogen detection in hyperimmune sera. The authors conclude that is indispensable for the hyperimmune serum to be tested a protein concentration under 10g% in order to avoid false-negative results. 40.00% of the positive pyrogen proofs in rabbits, was due to the presence of bacterial endotoxin by Gram negative germs and 46,66% by other factors. In a reduced number of sera (13,33%) the "in vitro" LAL test detected quantities of bacterial endotoxins of Gram negative germs that were not able to induce hyperthermia in rabbits.





107. VANCETTO, M. D. C.; LIMA, M. L. S. R.; PERES, C. A.; SOERENSEN, B.; COSTA, L. M.; SANTOS, N. P.; UEDA, C. M. P. M.
Neutralização cruzada do veneno de *Lachesis muta muta* frente aos soros antiofídico polivalente, antibotrópico e anticrotálico — Instituto Butantan.
*Vac. Soros, 1*: 58-63, 1985.

*Resumo*: As serpentes do gênero *Lachesis* ocorrem no Brasil na Região Amazônica e na Zona da Mata Atlântica, indo do Norte do Estado do Rio de Janeiro até o Estado da Paraíba. A incidência de picados por estas serpentes está em torno de 0,28% e, com isso, a produção do soro específico é feita em menor escala que para os outros gêneros de serpentes, além de não termos um número suficiente de exemplares para a obtenção do veneno. Foi estudada a eficiência de 3 soros hiperimunes (Antiofídico, Antibotrópico e Anticrotálico), produzidos pelo Instituto Butantan quanto á neutralização cruzada do veneno de *Lachesis muta muta*. Essa eficiência foi medida pela fração de sobrevivência obtida através de doses escolhidas obedecendo a um espaçamento de 0,05mg sendo que a menor delas foi 0,15mg de veneno por ml de soro e a maior foi aquela para a qual a sobrevivência observada foi zero pela segunda vez consecutiva. A partir de curvas dose-respostas e estudos imunoeletroforéticos, podemos afirmar que os soros Antibotrópico e Antiofídico são 100% eficientes para uma dose de 0,25mg do veneno de *Lachesis muta muta*, enquanto que a sobrevivência de 100% para o soro Anticrotálico é de 0,15mg.

*Abstract*: In Brazil the genus *Lachesis* has been reported from Amazonic region and throught the Mata Atlantica. The low human accidents levels with snakes of this genus (0,28%) and the difficulty to obtain live specimens to extract venom, has been limited the specific serum production. It has been tested the neutralizing efficiency of non specifics imunesera (Antiophidic, Antiborthropic and Anticrotalic) against *Lachesis muta muta* venom. The neutralizing potency of those antisera was determined a dose-response curve. The Antiophidic and Antibothropic sera were able to neutralize 0,25mg of *Lachesis muta muta* venom and the Anticrotalic serum neutralizes 0,15mg. The immuneletrophoretic dates corroborated these results.

108. VEIGA, R.M.O. & MORAES, R.H.P.
Ação predatória do turbelário *Dugesia tigrina* sobre moluscos aquáticos dos gêneros *Biomphalaria*, *Physa* e *Pomacea*.
*Rev. Biotérios, 1*:5-7, 1981.

*Resumo*: Em condições laboratoriais, foi observada a ação predatória do turbelário aquático *Dugesia tigrina* (Girard, 1850) sobre caramujos de água-doce de três gêneros: *Biomphalaria* Preston, 1910; *Physa* Draparnaud, 1801 e *Pomacea* Perry, 1811, mostrando a predação total sobre *Physa* e suas desovas, bem como *Biomphalaria*. Os caramujos do gênero *Pomacea* a partir de 0,7mm, não tiveram seu desenvolvimento prejudicado.

*Abstract*: On laboratory conditions *Dugesia tigrina* developed a predatory action in aquatic moluscs of the genuses *Biomphalaria*, *Physa* and *Pomacea*. This breed of Turbellaria eliminated *Physa* and their egg masses, as well as, any size of *Biomphalaria* and *Pomacea up to 0,7mm. The results indicated that D. tigrina* can be used on the biological control against schistosomiasis.

109. VELDE, V.V.; LAVIE, D.; ZELNIK, R.; MATIDA, A.K.; PANIZZA, S.
Cordialin A and B, two new triterpenes from *Cordia verbenacea* DC.
*J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, (11):2697-700, 1982.

*Abstract*: Two new dammarane-type triterpenes, cordialin A and B isolated from *Cordia verbenacea* have been identified. They have in common, a 3,19-hemiacetal group bridging ring A, and an 11$\alpha$-hydroxy-group. They differ in the substitution pattern of the side-chain, the former having a 20(22)en-23-one system and a 24,25-epoxide group, while the latter bears a 20(22)-ene-24,25-diol system.

*Resumo*: Dois novos triterpenos do tipo damarano, Cordialin A e B foram isolados de *Cordia verbenacea*. Possuem em comum um grupamento hemiacetal no anel A, formando uma ponte nos carbonos 3 e 19, assim como uma hidroxila em $\alpha$ no carbono 11. A diferença se verifica na cadeia lateral pelo tipo de substituição, sendo que o primeiro componente apresenta um sistema 20(22)-ene-23-one e o segundo aponta um sistema 20(22)-ene-24,25-diol.

110. WINTER, C.E.; FLOETER-WINTER, L.M.; AFFONSO, M.H.T.; IOSHIMOTO, L.M.; BEÇAK, W.
Yolk proteins and their plasmatic precursor in the tetraploid *Odontophrynus americanus* (Amphibia, Anura).
*Comp. Biochem. Physiol., B2B*(3):515-24, 1985.

*Abstract*: 1. The vitellogenin of *Odontophrynus americanus* is a large (426.5 kDa) plasmatic protein.

2. The vitellogenin is composed of two different phosphoglycopeptides: VTG1 = 207.5 kDa and VTG2 = 202.4 kDa.

3. The vitellins originating from the partial proteolysis of the plasmatic vitellogenin on the ovary cells are composed of lipovitellins and phosphoproteins.

4. Lipovitellin 1 has two glycopeptides with different amino acid sequences as determined by peptide mapping ($LV_{1\alpha}$, 104,6 kDa; and $LV_{1\beta}$, 92.6 kDa).

5. Lipovitellin 2 is composed of three kinds of polypeptides ($LV_{2\alpha}$, 31.7 kDa; $LV_{2\beta}$, 29.7 kDa; $LV_{2\gamma}$, 27.8 kDa).

6. There are three phosphopeptides in the yolk; phosvitin (PV, 37.4 kDa) and phosvettes 1 (PVT1, 27.7 kDa) and 2 (PVT2, 26.1 kDa).

*Resumo*: A vitelogenina plasmática de *Odontophrynus americanus* é uma proteína plasmática de alto peso molecular (426.5 kDa).

2. A vitelogenina é composta de dois fosfoglico peptídeos diferentes: VTG1 = 207.5 kDa e VTG2 = 202.4 kDa.

3. As vitelinas originadas da proteólise parcial da vitelogenina plasmática nas células ovarianas são compostas de lipovitelinas e fosfoproteínas.

4. A lipovitelina 1 tem dois glicopeptídeos com seqüências de aminoácidos diferentes como determinado por mapeamento peptídico ($LV_{1\alpha}$, 104,6 kDa; e $LV_{1\beta}$ = 92,6 kDa).

5. A lipovitelina 2 é composta de três tipos diferentes de polipeptídeos ($LV_{2\alpha}$, 31,7 kDa; $LV_{2\beta}$, 29,7 kDa; $LV_{2\gamma}$, 27,8 kDa).

6. Há três fosfopeptídios no vitelo: fosvitina (PV, 37,4 kDa) e as fosvetes 1 (PVT1, 27,7 kDa) e 2 (PVT2, 26,1 kDa).

111. YANAGUITA, R.M.; ROSA, C.A.S.; ROLIM ROSA, R.; GIOMETTI, J.
Prevalência de aglutininas antileptospiras em eqüinos mantidos para produção de soros terapêuticos.
*Rev. Microbiol., 13*(1):22-5, 1982.

*Resumo*: Através da reação de soroaglutinação microscópica para leptospirose, foram examinados 504 soros de eqüinos. Como antígenos, utilizaram-se 18 culturas vivas de vários sorotipos e considerou-se o título inicial de 1:100 como reação positiva. Tentativas de isolamento a partir da urina de 6 animais resultaram negativas. 51 soros (10,11%) foram positivos, tendo-se encontrado aglutininas contra os sorotipos *andamana* (23,53%), *pomona* (15,67%), *panama* e *australis* (13,72%), como os mais freqüentes. Foram evidenciados, ainda, anticorpos para os sorotipos *wolffii, canicola, butembo, shermani, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa* e *brasiliensis*. *Em seis soros ocorreram anticorpos para dois ou mais sorotipos* e *nenhuma correlação entre cegueira* e *leptospirose foi constatada*.

*Abstract*: Sera from 504 horses were examined through the microscopic agglutination test. Eighteen serotypes of leptospira were used as alive antigens. Titers of 1:100 and higher were considered significant. The isolation of *Leptospira* was tried from urine of six animals, but no isolation was achieved. From 504 horses, 51 (10,11%) were positive. Agglutinins against serotypes *andamana* (23,53%), *pomona* (15,67%), *panama* and *australis* (13,72%) were found. Besides, antibodies against serotypes *wolffii, canicola, butembo, shermani, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa* and *brasiliensis* were also seen. Coagglutinins occured in six sera. No correlation between blindness and leptospirosis was verified.

112. ZELNIK, R.; GOTTLIEB, H.E.; LAVIE, D.
A hidrogenation product derived from the diterpenoid barbatusin; a revised structure.
*Tetrahedron, 35*:2693-5, 1979.

*Abstract*: The structure of the hydrogenation product of barbatusin, a diterpenoid from *Coleus barbatus* Bentham has been revised on the basis of NMR and X-ray data. A geminal coupling of unusually high magnitude has been observed and analysed.
*Resumo*: A estrutura do produto de redução do barbatusin. um diterpeno isolado de *Coleus barbatus* Bentham, foi reinvestigada com base nos dados de RMN e de Raio-X. Um acoplamento geminado de grande magnitude foi observado e analisado.

113. ZELNIK, R.; HARAGUCHI, M.; MATIDA, A.K.; LAVIE, D.; FROLOW, F.; WEIS, A.L.
X-ray molecular structure of caissarone, a novel purine derivative from the sea anemone *Bunodosoma caissarum* Correa 1964.
*J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*:2051-3, 1986.

*Resumo*: Uma nova purina quaternária foi isolada da anêmona-do-mar *Bunodosoma caissarum* e sua estrutura determinada por métodos espectroscópicos e por análises por difração de Raio-X. Trata-se do cloridrato da 3,9-dimetila-6-metilimino-8 -oxo- 3,6,8,9-tetrahidropurina (caissarona). A estrutura por Raio-X aponta o átomo de nitrogênio como sendo o centro mais rico em elétrons e indica que a molécula é plana.

*Abstract*: A new quaternary purine derivative isolated from the sea anemone *Bunodosoma caissarum* has been identified, by spectroscopic measurements and X-ray diffraction analysis, to be 3,9-dimethyl- 6-methylimino- 8-oxo- 3,6,8,9-tetrahydropurine (caissarone) and isolated as the hydrocloride. The X-ray structure indicates that the exocyclic nitrogens is apparently the most electron-rich centre and that the molecule is planar.

114. ZELNIK, R.; LAVIE, D.; LEVY, E.C.; WANG, A.H.J.; PAUL, I.C.
Barbatusin and cyclobutatusin, two novel diterpenoids from *Coleus barbatus* Bentham.
*Tetrahedron, 33*:1457-67, 1977.

*Abstract*: The structure of three diterpenoids from *Coleus barbatus*, Bentham (Labiatae) having a spirocyclopropyl side chain have been determined: they are barbatusin (1a), 3β-hydroxi-3-deoxybarbatusin (2) and cyclobutatusin (3a). The structures of 1a and 3a were established by X-ray diffraction analysis, and the latter compound has been shown to have an unusual 4-membered ring produced by a bond across C(1) to C(11). Chemical transformations and interconversions are presented, together with spectroscopic studies.

*Resumo*: As estruturas de três diterpenos isolados de *Coleus barbatus* Bentham (Labiada), possuindo um anel espirociclopropila na cadeia lateral, foram determinadas: tratam-se de barbatusin





(1a), 3β-hidróxi-3-deidróxibarbatusin (2) e ciclobutatusin (3a). As estruturas de 1a e 3a foram desvendadas por análise de difração por Raios-X, sendo que este último composto aponta um anel tetracíclico formado por uma ligação entre os carbonos C(1) e C(11). As transformações químicas e as interconversões são apresentadas juntamente com os estudos de espectroscopia.

115. ZELNIK, R.; MATIDA, A.K.; DJERASSI, C.; WAHID KHALIL, M.; FREITAS, J.C. de.
Esteróis da túnica de *Ascidia nigra* (Savigny 1816) (Tunicata-Ascidiacea).
*An. Acad. bras. Ciênc.*, *53*():733-6, 1981.

*Resumo*. A composição de esteróis do Tunicado *Ascidia nigra* foi determinada pela cromatografia de gás acoplada à espectrometria de massa, e consiste de uma mistura de, pelo menos, 19 esteróis, com 26 a 30 átomos de carbono, sendo maior a proporção de compostos insaturados. A presença do gorgosterol é descrita, pela primeira vez, no grupo dos Tunicados. As origens biossintética e dietética destes esteróis são discutidas.

*Abstract*. The sterol composition of the Tunicate *Ascidia nigra* has been determined by combined gas chromatography and mass spectra and is a mixture of at least nineteen C-26 to C-30 sterols with a high proportion of unsaturated compounds. The presence of gorgosterol is recorded for the first time in Tunicates. The biosynthetic and dietary origins of these sterols are discussed.

116. ZELNIK, R. & RABENHORST, E.
Síntese de hidontoínas de terpenos carbonílicos.
*An. Acad. bras. Ciênc.*, *54*(1):99-101, 1982.

*Resumo*: A partir dos terpenos carbonílicos citral, α-ionona e metil-ionona, sintetizamos as hidantoínas correspondentes, pelo método de Bucherer-Bergs. No caso do citral, que é uma mistura de geranial e neral 2:1, obtivemos duas hidantoínas isômeras, cuja separação foi efetuada por cromatografia. Na reação da α-ionona, isolamos, além do derivado hidantoínico, um composto mais polar, de fórmula molecular $C_{16}H_{23}N_3O_2$. Com a metil-ionona, que é uma mistura de isômeros α e β 3:1, separamos, por cromatografia, duas hidantoínas isômeras e uma terceira substância mais polar, de fórmula molecular $C_{17}H_{25}N_3O_2$.

*Abstract*. The synthesis of the hydantoins of the terpenes citral, α-ionone and methyl-ionone is reported. Citral which is a 2 to 1 mixture of geranial and neral furnished two isomeric derivatives whose separation was effected through chromatography, α-ionone gave the expected hydantoin and a more polar compound $C_{16}H_{23}N_3O_2$. Methyl-ionone which is a 3 to 1 mixture of α and β isomers yielded two isomeric derivatives and a more polar component $C_{17}H_{25}N_3O_2$.

117. ZELNIK, R.; RABENHORST, E.; HAIDER, A.; LAUTERWEIN, J.; WYLER, H.
Photosensitized oxygenation of abieta — 7,9 (11) - dien - 13 β - 01.
*Helv. Chim. Acta*, *66* (3): 780-8, 1983.

*Abstract*. Dehydration of abiet-8-ene-7 β. 13 β-diol (ibozol. 1 leads to abieta-7.9(11)-dien-13 β-01 (2) which aromatizes slowly to the known abieta-8, 11, 13-triene (3). Photosensitized oxygenation of the heteroannular diene 2 yields a mixture from which three compounds were identified: abiet-7-ene-9 α, 11α, 13β β-triol (4), abieta-8, 11, 13-trien-7-one (5), and abieta-8, 11, 13-trien-7 α-01 (6).

*Resumo:* A deidratação do abieta-8-ene-7 β,13 β-diol (ibozol 1) leva ao abieta-7,9(11)-dieno-13 β-01 (2), o qual aromatiza-se em abieta-8,11,13-trieno (3), composto já descrito. A fotooxidação sensibilizada do dieno heteroanular 2 fornece uma mistura na qual foram identificados três componentes: abieta-7-ene-9 α,11α,13 β-triol (4), abieta-8,11,13-trieno-7-one (5) e abieta-8,11,13-trieno-7α-01 (6).

118. ZELNIK, R.; RABENHORST, E.; MATIDA, A.K.; GOTTLIEB, H.E.; LAVIE, D.; PANIZZA, S.
Ibozol, a new diterpenoid from *Iboza riparia*.
*Phytochemistry*, *17*:1795-7, 1978.

*Abstract*. In the course of a continuing phytochemical survey of Brazilian Labiatae, we have examined a sample of *Iboza riparia* NE Brown from which we report the isolation of a new diterpenediol, Ibozol (13-isopropilpodocarp-8-ene 7 β,13 β-Diol), together with the known 7 α-hydroxyroyleanone and sitosterol.

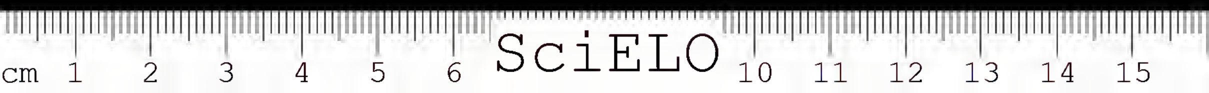
*Resumo:* No decorrer de um levantamento fitoquímica de Labiadas brasileiras, examinamos uma amostra de Iboza riparia NE Brown na qual isolamos um novo diterpenodiol, Ibozol (13-isopropilapodocarp-8-ene-7, β,13 β-diol), juntamente com a 7α-hidróxiroyleanona já descrita e o sitosterol.

## ÍNDICE DE AUTOR/AUTHOR INDEX










cm 1 2 3 4 5
SciELO
10 11 12 13 14

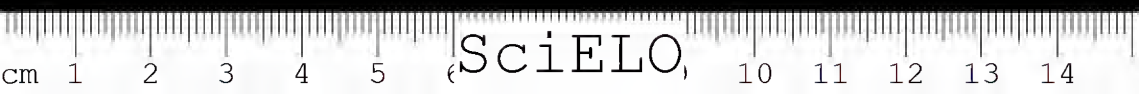
MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO BUTANTAN

VOLUME 49

1987


| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Mem. Inst. Butantan | v. 49 | n.1-3 | p.1-150 | 1987 |

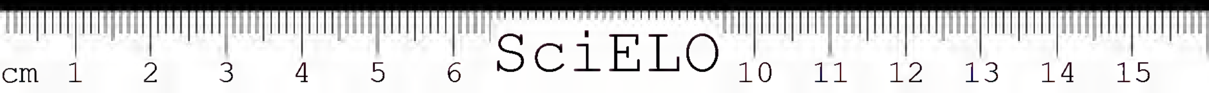


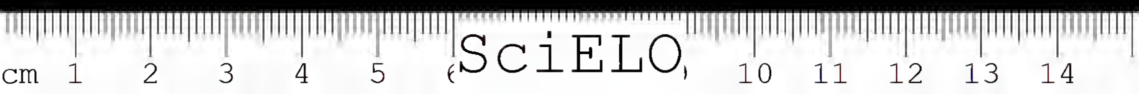


SciELO

## ÍNDICE DE AUTOR/AUTHOR INDEX








SciELO

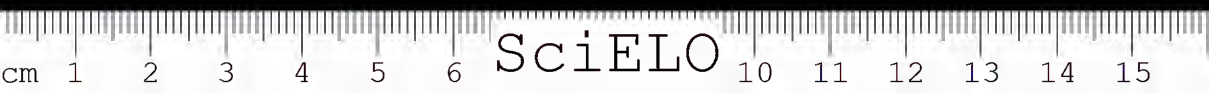
## CONTEÚDO/CONTENTS
## VOLUME 49, 1987
N.º 1

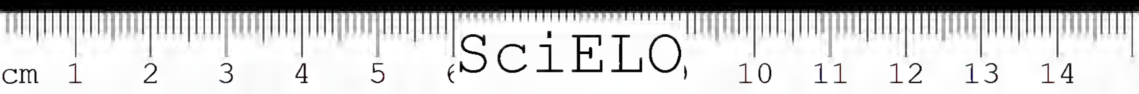


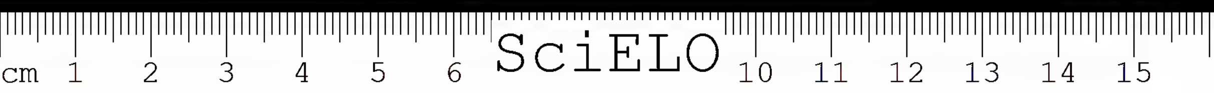
N.º 2



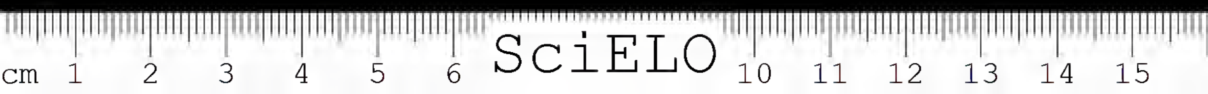





cm 1 2 3 4 5
SciELO
10 11 12 13 14




cm 1 2 3 4 5
SciELO
10 11 12 13 14


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

1. Somente serão aceitos trabalhos inéditos e que se destinem exclusivamente à revista. É proibida a reprodução com fins lucrativos. Os artigos de revisão serão publicados a convite da Comissão Editorial.
2. Os trabalhos deverão ser redigidos em português, inglês ou francês, datilografados preferencialmente em máquina elétrica, em espaço duplo em 3 (três) vias, em papel formato ofício e numerados no ângulo superior direito.
3. No preparo do original será observada, sempre que possível, a seguinte estrutura: Página de rosto: título do artigo, nome(s) do(s) autor(es) e filiação científica. Texto: introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos (antes da referência bibliográfica). Material de referência: resumos (em português e inglês); palavras-chave (palavras ou expressões que identificam o conteúdo do artigo; devem ser incluídas até um limite máximo de três, em português e inglês); Referências bibliográficas.
4. As referências bibliográficas deverão ser ordenadas alfabeticamente e numeradas.
   Exemplos:
   Para livros: autor, título, edição, local de publicação, editor, ano, páginas.
   7. BIER, O. Microbiologia e imunologia. 24.ed. São Paulo, Melhoramentos, 1985. 1234p.
   Para artigos: autor, título do artigo, título do periódico, volume, página inicial e final, ano.
   8. MACHADO, J.C. & SILVEIRA F.º, J.F. Obtenção experimental da pancreatite hemorrágica aguda no cão por veneno escorpiônico. Mem. Inst. Butantan, 40/41: 1-9, 1976/77.
   As citações no texto devem ser por números-índices correspondentes às respectivas referências bibliográficas.
   Exemplos:
   ... método derivado de simplificação de armadilha de Disney[1]
   ... segundo vários autores[2,3,4]
5. As ilustrações (fotos, tabelas, gráficos etc.) deverão ser originais e acompanhadas de legendas explicativas. As legendas serão numeradas e reunidas em folha a parte. Os desenhos deverão ser a nanquim e as fotografias bem nítidas, trazendo no verso o nome do autor e a indicação numérica da ordem a ser obedecida no texto. As ilustrações deverão ser organizadas de modo a permitirem sua reprodução dentro de uma página normal da revista (22 x 12,5cm).
6. Os artigos deverão conter no máximo 6 (seis) ilustrações (branco e preto). De cada trabalho serão impressas 50 (cinqüenta) separatas, sendo 10 para a Biblioteca do Instituto e 40 para os autores.
7. Os textos originais não serão devolvidos e os originais das ilustrações estarão à disposição dos autores.

## INSTRUCTIONS TO AUTHORS

1. Manuscripts submitted to the Editorial Board should be unpublished texts and should not be under consideration for publication elsewhere. Reproduction for commercial purposes is not allowed. The Editorial Board will plan the publication of revision articles.
2. The original and two copies of papers should be typewritten in Portuguese, English or French, double spaced, on typing paper (31 x 21cm). Pages should be numbered consecutively at the upper right corner.
3. The following structure should be considered in the preparation of the manuscript: Title page: with article title, name of author(s), professional address. Text: with introduction, material and methods, results, discussion, conclusions, acknowledgments, references, summary (in Portuguese and English), and key-words. A maximal number of 03 key-words should be included in Portuguese and English.
4. References in alphabetical order should be numbered consecutively.
   Examples:
   Books
   7. BIER, O. Microbiologia e imunologia. 24.ed. São Paulo, Melhoramentos, 1985. 1234p.
   Articles
   8. MACHADO, J.C. & SILVEIRA F.º, J.F. Obtenção experimental da pancreatite hemorrágica aguda no cão por veneno escorpiônico. Mem. Inst. Butantan, 40/41: 1-9, 1976/77.
   Citations in the text should be identified by the reference number.
   Examples:
   ... método derivado de simplificação de armadilha de Disney[1]
   ... segundo vários autores[2,3,4]
5. Illustrations (photographs, tables, figures etc.) should be the originals and legends should be submitted typewritten on a separate sheet. Line-drawings should be with China ink and photographs must be of top quality. On the back of each figure or photograph the name of the author(s) should be lighly written and the number indicating the sequence in the text. Illustrations should fit in a page measuring 22 x 12,5cm.
6. No more than 6 illustrations will be accepted and photographs should be black and white. Fifty reprints of each article are provided without charge, and 10 will be kept at the library.
7. Submitted manuscripts will not be returned to the author(s) but the original illustrations are available to author(s) by request.

ISSN 0073 – 9901



IMPRENSA OFICIAL
DO ESTADO S.A. IMESP
SÃO PAULO — BRASIL
1988

GOVERNO QUÉRCIA

